

PRZEWODNIK DO ZAJĘĆ LABORATORYJNYCH

CHEMIA I ANALIZA ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO



**UNIwersytet
WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE**

WYDZIAŁ NAUKI O ŻYWNOŚCI

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych



**DR HAB. INŻ. IWONA KONOPKA, PROF. UWM
DR HAB. INŻ. MAŁGORZATA TAŃSKA
DR HAB. INŻ. SYLWESTER CZAPLICKI
PROF. DR HAB. KATARZYNA MAJEWSKA**

SPIS TREŚCI

Sylabus	3
Wzór karty ćwiczeń	5
Instrukcja BHP	6
Wskazówki pierwszej pomocy w niektórych wypadkach	7
Wzór oświadczenia studentów	8
Wzór sprawozdania	9
Ćwiczenie 1	10
Ćwiczenie 2	24
Ćwiczenie 3	41
Ćwiczenie 4	50
Ćwiczenie 5	56
Ćwiczenie 6	76



UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

Wydział Nauki o Żywności

Sylabus przedmiotu/modułu - część A

01303-15-C

CHEMIA I ANALIZA ŻYWNOSCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO
CHEMISTRY AND ANALYSIS OF PLANT ORIGIN FOOD

ECTS: 4

TREŚCI MERYTORYCZNE

WYKŁAD

Białka surowców roślinnych i ich funkcje technologiczne. Lipidy surowców roślinnych i ich funkcje technologiczne. Węglowodany surowców roślinnych i ich funkcje technologiczne. Chromatograficzne oznaczanie składników żywności pochodzenia roślinnego. Zastosowanie wizyjnej analizy obrazu do oceny jakości żywności pochodzenia roślinnego. Zastosowanie pomiarów wytrzymałościowych i reologicznych do oceny jakości żywności pochodzenia roślinnego.

ĆWICZENIA

Białka surowców roślinnych i ich funkcje technologiczne. Lipidy surowców roślinnych i ich funkcje technologiczne. Węglowodany surowców roślinnych i ich funkcje technologiczne. Chromatograficzne oznaczanie składników żywności pochodzenia roślinnego. Zastosowanie wizyjnej analizy obrazu do oceny jakości żywności pochodzenia roślinnego. Zastosowanie pomiarów wytrzymałościowych i reologicznych do oceny jakości żywności pochodzenia roślinnego.

CEL KSZTAŁCENIA

Przekazanie wiedzy nt. budowy i właściwości funkcjonalnych białek zapasowych zbóż, lipidów zbóż i nasion oleistych oraz polisacharydów skrobiowych i nieskrobiowych surowców roślinnych (zbóż, nasion oleistych oraz owoców i warzyw. Przekazanie wiedzy nt. podstawowych i zaawansowanych procedur i technik fizyko-chemicznych wykorzystywanych do analizy składu i właściwości funkcjonalnych. Nabycie podstawowych umiejętności obsługi standardowej aparatury i urządzeń do analizy składu i właściwości.

OPIS EFEKTÓW KSZTAŁCENIA PRZEDMIOTU W ODNIESIENIU DO OBSZAROWYCH I KIERUNKOWYCH EFEKTÓW

KSZTAŁCENIA

Symbole efektów obszarowych R1A_W03+, R1A_W04+, R1A_W05+, R1A_U02+, R1A_U04+, R1A_K02+, R1A_K03+, InzA_W01+, InzA_W02+, InzA_U01+, InzA_U02++

Symbole efektów kierunkowych K1_W09+, K1_W21+, K1_U02+, K1_U05+, K1_K02+, K1_K04+

EFEKTY KSZTAŁCENIA

Wiedza

W1 - Opisuje budowę chemiczną podstawowych makroskładników surowców roślinnych i ich właściwości funkcjonalne: wiązanie wody, żelowanie, emulgowanie, tworzenie piany, krystalizacja tłuszczów (K1_W09)

W2 - Charakteryzuje podstawowe metody i techniki analizy składu i właściwości funkcjonalnych surowców pochodzenia roślinnego (K1_W21)

Umiejętności

U1 - Obsługuje standardową aparaturę i urządzenia do analizy składu i właściwości funkcjonalnych składników żywności pochodzenia roślinnego (K1_U05)

U2 - Opracowuje wyniki analiz doświadczalnych (podstawowe miary statystyczne; tworzenie tabel, wykresów, diagramów) i sporządza wnioski z doświadczeń (K1_U02)

Kompetencje społeczne

K1 - Współpracuje z kolegami z zespołu badawczego przy sporządzaniu sprawozdań (K1_K02)

K2 - Świadomie ocenia wkład własnej pracy w realizację zadań (K1_K04)

LITERATURA PODSTAWOWA

1) H. Gąsiorowski (red.), 2004r., "Pszonica - chemia i technologia", wyd. PWRiL Poznań, 2) C. E. Stauffer, 1999r., "Emulgatory", wyd. WNT Warszawa, 3) Z. Witkiewicz, 2000r., "Podstawy chromatografii", wyd. WNT Warszawa, 4) P. J. Barnes (red.), 1983r., "Lipids in Cereal Technology", wyd. Academic Press, 5) J.H. Dobrzycki, N. Barytko-Pikielna, 1986r., "Instrumentalne metody pomiaru tekstury żywności", wyd. SGGW Warszawa.

LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA

1) M.C. Bourne, 2002r., "Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement", wyd. Academic Press New York.

Przedmiot/moduł:

CHEMIA I ANALIZA ŻYWNOSCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO

Obszar kształcenia: nauki rolnicze, leśne i weterynaryjne

Status przedmiotu: Obowiązkowy

Grupa przedmiotów: C-przedmiot specjalnościowy

Kod ECTS: 01303-15-C

Kierunek studiów: Technologia żywności i żywienie człowieka

Specjalność: Technologia produktów roślinnych

Profil kształcenia: Ogólnoakademicki

Forma studiów: Stacjonarne

Poziom studiów/Forma kształcenia: Studia pierwszego stopnia

Rok/semestr: III/5

Rodzaje zajęć: ćwiczenia laboratoryjne, wykład

Liczba godzin w semestrze/tygodniu:

Wykład: 30/2

Ćwiczenia: 30/5

Formy i metody dydaktyczne

Wykład

Wykład - Wykład informacyjny multimedialny (W1, W2)

Ćwiczenia

Ćwiczenia laboratoryjne - ćwiczenia laboratoryjne

połączone z seminarium (U1, U2, K1, K2)

Forma i warunki zaliczenia

Kolokwium pisemne 1 - pisemne zaliczenie treści

wykładow - 70% oceny końcowej (W1, W2)

Sprawozdanie 1 - sprawozdania z realizacji ćwiczeń z

oceną wkładu pracy własnej (U1, U2, K1, K2)

Liczba punktów ECTS: 4

Język wykładowy: polski

Przedmioty wprowadzające: biochemia, chemia żywności,

Wymagania wstępne: brak

Nazwa jednostki organizacyjnej realizującej

przedmiot:

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych

adres: pl. Cieszyński 1, pok. 223, 10-957 Olsztyn

tel./fax 523-34-66

Osoba odpowiedzialna za realizację przedmiotu:

dr hab. inż. Iwona Zofia Konopka, prof. UWM

e-mail: iwona.konopka@uwm.edu.pl

Osoby prowadzące przedmiot:

dr inż. Sylwester Czaplicki, dr hab. inż. Iwona Zofia

Konopka, prof. UWM, prof. dr hab. inż. Katarzyna

Małgorzata Majewska, dr inż. Małgorzata Tańska, prof. dr

hab. Ryszard Jerzy Zadernowski, prof.zw.

Uwagi dodatkowe:

grupa do 24 osób

Szczegółowy opis przyznanej punktacji ECTS - część B

**CHEMIA I ANALIZA ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO
CHEMISTRY AND ANALYSIS OF PLANT ORIGIN FOOD**

ECTS: 4

Na przyznaną liczbę punktów ECTS składają się :

1. Godziny kontaktowe z nauczycielem akademickim:	
- udział w wykładach	30,0 godz.
- udział w ćwiczeniach	30,0 godz.
	<hr/>
	60,0 godz.
2. Samodzielna praca studenta:	
- Przygotowanie się do pisemnych sprawdzianów	25,0 godz.
- Przygotowanie się do praktycznej realizacji ćwiczeń	9,0 godz.
- Przygotowanie sprawozdań z realizacji ćwiczeń	20,0 godz.
	<hr/>
	54,0 godz.

godziny kontaktowe + samodzielna praca studenta OGÓŁEM: 114,0 godz.

liczba punktów ECTS = 114,00 godz. : 29,00 godz./ECTS = **3,93 ECTS**

w zaokrągleniu:

4 ECTS

- w tym liczba punktów ECTS za godziny kontaktowe z bezpośrednim udziałem nauczyciela akademickiego - **2,11** punktów ECTS,
- w tym liczba punktów ECTS za godziny realizowane w formie samodzielnej pracy studenta - **1,89** punktów ECTS.

CHEMIA I ANALIZA ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO

III rok studiów I°

WNoŻ - 2015/2016

Wykładowca: dr hab. inż. Iwona Konopka, prof. UWM, prof. dr hab. inż. Ryszard Zadernowski, prof. UWM,
prof. dr hab. inż. Katarzyna Majewska, dr inż. Sylwester Czaplicki, dr inż. Małgorzata Tańska

Ćwiczenia: dr hab. inż. Iwona Konopka, prof. UWM, prof. dr hab. inż. Katarzyna Majewska, dr inż. Sylwester
Czaplicki, dr inż. Małgorzata Tańska

Ocena końcowa ćwiczeń: 75% ze średniej oceny z zaliczenia sprawdzianów, 20 % ocena umiejętności praktycznych (sprawozdania + praca seminaryjna), 5 % ocena kompetencji (umiejętność zmiany ról na ćwiczeniach oraz oceny pracy członków zespołu)

Nazwisko i Imię	OBECNOŚĆ							UMIEJĘTNOŚCI I KOMPETENCJE (sprawozdania, seminarium + obserwacja na zajęciach)							WIEDZA (pisemne sprawdziany wiedzy)						ZALICZENIE KOŃCOWE			
	1	2	3	4	5	6	7	1+2	3	4	5	6	7	KS	1	2	3	4	5	6				

KS – kompetencje społeczne

INSTRUKCJA BHP

Ogólne zasady organizacji pracy laboratoryjnej oraz bezpieczne i higieniczne jej wykonanie

1. Zabrania się przebywania w laboratorium bez osobistej odzieży ochronnej. Fartuch powinien być wymiarowy i zapięty na guziki.
2. Zabrania się przechowywania w laboratorium zewnętrznej odzieży osobistej.
3. W laboratorium zabrania się spożywania jakichkolwiek posiłków i palenia tytoniu.
4. Nie tarasować dróg komunikacyjnych i przejść w laboratorium.
5. Zachowywać daleko idącą ostrożność przy korzystaniu ze źródeł prądu elektrycznego – otoczenie źródła prądu powinno być utrzymane w stanie suchym. Nie wolno włączać źródeł prądu mokrymi rękoma.
6. Przy opuszczaniu stanowiska pracy sprawdzić stan urządzeń instalacji elektrycznej, wodnej i gazowej. Zauważone usterki zgłosić laborantowi względnie asystentowi prowadzącemu zajęcia dydaktyczne.
7. Osobę pracującą w laboratorium zobowiązuje się do znajomości umiejętnego posługiwania się sprzętem przeciwpożarowym i udzielania właściwej pomocy w nagłych wypadkach.
8. Dbać o odpowiednie zabezpieczenie butli gazowych oraz instalacji doprowadzającej dany gaz. Butle gazowe mogą być magazynowane wyłącznie w miejscach specjalnie do tego celu przystosowanych.
9. Zabrania się zdejmowania osłon z części wirujących maszyn i urządzeń w czasie ich pracy.
10. Osoba prowadząca reakcję chemiczną ma obowiązek dokładnego zapoznania się ze wszystkimi teoretycznymi możliwościami jej przebiegu. Należy przedsięwziąć wszystkie środki ostrożności na wypadek niepożądanego przebiegu procesu. Jeżeli w wyniku reakcji mogą wywiązać się szkodliwe dla zdrowia pary lub gazy aparatura powinna znajdować się pod dygestorium ze sprawnie działającym wyciągiem. Należy pamiętać o obowiązku neutralizacji szkodliwych par i gazów. Ponadto należy zapoznać się z toksykologią substancji występujących w procesie i sposobach zabezpieczania przed ich działaniem – karty charakterystyki.
11. Stałe substancje chemiczne i płyny powinny być przechowywane we właściwych naczyniach (szczelne korki i właściwe oznakowanie na naczyniu) .
12. Wymaga się przestrzegania ładunku i czystości na stanowisku pracy.
13. Nie pozostawiać rozlanych, względnie rozsypanych substancji chemicznych.
14. Do prac eksperymentalnych wymagających wysokiej temperatury należy bezwzględnie używać grubościennych, okrągłodennych kolb, nie wolno używać naczyń o niejednakowej grubości ścian, naczyń ze szkła lanego oraz naczyń posiadających kandy i załamania.
15. W miarę możliwości należy unikać stosowania stężonych kwasów względnie alkaliów, a jeżeli zachodzi konieczność ich używania należy bezwzględnie stosować okulary ochronne.
16. Roztworów **nie wolno** wciągać do pipety ustami (szczególnie trujących lub żrących).
17. Pobieranie gazów z butli może odbywać się wyłącznie za pomocą przewodu specjalnie przystosowanego do danego gazu.

Wskazówki pierwszej pomocy w niektórych wypadkach

Telefony alarmowe
Pogotowie ratunkowe - 999
Straż Pożarna - 998

1. Urazy oczu

W razie prysnięcia do oka kwasów, ługów itp. wskazania pierwszej pomocy są następujące:

- rozdzielić kciukiem i palcem wskazującym kurczowo zaciśnięte powieki,
- przepłukać oko dużą ilością czystej letniej wody (strumień wody w kierunku od nosa do skroni),
- nałożyć opatrunek ochronny na oczy (również na zdrowe oko, jeżeli zapryskane jest tylko jedno oko),
- natychmiast skierować chorego do lekarza okulisty.

W razie zranienia gałki ocznej odłamkami szkła

- założyć na oko wyjałowiony opatrunek osobisty,
- natychmiast skierować chorego do lekarza okulisty.

Uwaga!

Gdy obce ciało tkwi w oku pod powieką górną lub dolną można je przed założeniem opatrunku ostrożnie wyjąć brzeżkiem zwilżonej czystej chustki lub zwilżonym wacikiem.

2. Skaleczenia

W przypadku skaleczeń wskazania pierwszej pomocy są następujące:

- rany nie dotykać palcami,
- nie oczyszczać rany, nie myć jej wodą ani żadnym płynem odkażającym,
- nie usuwać z rany skrzepów krwi ani ciał obcych,
- nie kłaść na ranę bezpośrednio waty, ligniny ani używanej chusteczki higienicznej,
- założyć suchy, jałowy opatrunek (apteczka znajduje się na sali ćwiczeń)
- skierować chorego do szpitala pełniącego dyżur.

Uwaga!

W przypadku drobnych zranień wystarcza przemyć rany 3% wodą utlenioną i przyklejenie „Prestoplastu”. Nigdy nie nakładać na zranione miejsce samego przylepca bez gazy.

3. Oparzenia termiczne

W przypadku oparzeń termicznych należy:

- rozebrać poparzonego w celu odsłonięcia części oparzonych. Z poparzonych palców należy koniecznie zdjąć obrączki lub pierścionki,
- poparzone miejsca schładzać przez 15 min. strumieniem zimnej wody,
- w razie rozległych oparzeń lub zerwania pęcherzy, natychmiast wezwać lekarza względnie odstawić chorego do szpitala,
- osobę płonąca w razie braku natrysku przewrócić i zdusić na nim ogień kocem – nie wolno pozwolić płonącemu biegać – natychmiast wezwać lekarza,
- przy silnych bólach podać środki przeciwbólowe.

4. Oparzenia chemiczne

Przy oparzeniach substancjami żrącymi miejsce oblane należy niezwłocznie obficie splukiwać niezbyt silnym strumieniem wody. Następnie założyć jałowy opatrunek i skierować chorego do lekarza.

5. Zatrucia

W przypadku zatrucia należy:

- usunąć zatrutego ze strefy skażonej,
- w przypadku obłania zatrutego trucizną (fenol, anilina itp.) należy natychmiast zdjąć odzież zalaną trucizną i spłukać truciznę z powierzchni ciała,
- jeżeli to konieczne stosować sztuczne oddychania lub podawać tlen,
- wezwać lekarza,
- przy zatruciach substancjami powodującymi objawy z tzw. okresem utajenia (tlenki azotu, siarczan dimetylu, anilina, nitrobenzen itp.) nie wolno dopuścić do żadnego wysiłku fizycznego u chorego, nawet jeżeli pozornie czuje się dobrze.

6. Porażenie prądem elektrycznym

W przypadku porażenia prądem elektrycznym należy:

- odciąć porażonego od źródła napięcia (obowiązuje izolacja rąk osoby niosącej pomoc),
- w razie stwierdzenia, że poszkodowany nie oddycha, zastosować sztuczne oddychanie i nie przerywać go dopóty, dopóki nie wystąpią oznaki samodzielnego oddychania lub wyraźne oznaki śmierci (plamy pośmiertne),
- natychmiast wezwać lekarza.

wzór oświadczenia

Olsztyn, dn.

Oświadczenia studentów

Lp.	Imię i nazwisko, grupa	Poznane metody	Umiejętność obsługi	Odpowiedzialność za	Podpis
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					

Wykonujący ćwiczenie:

.....

Olsztyn, dn.

Imię i Nazwisko

.....
.....
.....
.....
.....
.....

Rok:....., grupa:.....

SPRAWOZDANIE Z ĆWICZENIA NR

1. Temat ćwiczenia:

2. Cel ćwiczenia:

3. Materiał do badań:

4. Zadania do wykonania:

a)

b)

c)

...

5. Obliczenia:

6. Zestawienie wyników:

Wyróżnik	Jednostka	Wyniki			
		X1	X2	\bar{x}	\hat{s}

7. Wnioski:

ĆWICZENIE NR 1

1. Temat ćwiczenia

Podstawowe metody analiz białek w surowcach i żywności pochodzenia roślinnego

2. Cel ćwiczenia

- a. zapoznanie z metodami analiz ilości i jakości białka:
 - test sedymentacyjny,
 - oznaczenie zawartości i rozpuszczalności glutenu,
 - test Bradforda,
- b. analiza sekwencji wybranych białek roślinnych.

3. Materiał badań

- a) próbki mąki pszennej,
- b) sekwencje wybranych białek roślinnych.

4. Zadania do wykonania

- (a) oznaczenie wskaźnika sedymentacji
- (b) oznaczenie zawartości glutenu w próbkach mąki,
- (c) oznaczenie jakości (rozpuszczalności) glutenu w próbkach mąki,
- (d) oznaczanie zawartości frakcji białek w próbkach mąki,
- (e) analiza sekwencji wybranych białek roślinnych.

5. Sposób wykonania ćwiczenia

a) oznaczenie wskaźnika sedymentacji (test Zeleny'ego) - wg PN-93/A-74019

Wskaźnik sedymentacji jest to liczba, określająca objętość osadu powstałego w określonych warunkach z zawiesiny badanej mąki (otrzymanej z ziarna pszenicy) w roztworze mieszaniny kwasu mlekowego i izopropanolu w obecności błękitu bromofenolowego, wyrażona w mililitrach. Łączny czas trwania oznaczenia 15 min.

Objętość osadu zależy, z jednej strony od ilości białek, a z drugiej od ich zdolności hydratacyjnej. Z kolei zdolność hydratacyjna, a tym samym pęcznienie białek, zależy od stężenia jonów wodorowych w środowisku. Wg Kozminy (1974) maksymalne napęcznienie osadu występuje przy pH 2,8-3,0. Wielkość wskaźnika

sedymencacji może mieścić się w zakresie od 3 do 70 ml. Pozwala na porównanie różnych próbek mąki otrzymanych z tego samego młynka. Ustalono, że na wyniki oznaczenia mają wpływ: granulacja mąki, czas i temperatura sedymencacji, sposób wytrząsania oraz wielkość próbek.

Wykazano, że uzyskane tą metodą wyniki wykazują wysoką korelację ze wskaźnikami oceny wartości wypiekowej oznaczonymi przy użyciu aparatury do oceny właściwości reologicznych ciasta pszennego.

Wskaźnik sedymencacji pozwala określić wartość wypiekową ziarna pszenicy na etapie skupu. Wysoka wartość tego wskaźnika wskazuje na mąkę o dobrych wartościach wypiekowych, dające pewność otrzymania pieczywa o pożądanym cechach organoleptycznych (tab. 1).

Tab. 1. Wartości wskaźnika sedymencacyjnego dla ziarna pszenicy (Gąsiorowski, 2005)

poniżej 20 ml	pszenica niskobiałkowa, gluten o niskiej jakości
20 – 60 ml	pszenica średnia, gluten o średniej jakości
powyżej 60 ml	pszenica wysokobiałkowa, gluten bardzo mocny

Zasada metody:

Przygotowanie zawiesiny badanej mąki otrzymanej z ziarna pszenicy w określonych warunkach rozdrabniania i odsiewania, w roztworze kwasu mlekowego w obecności błękitu bromofenolowego. Po upływie określonego czasu wytrząsania i odstania, oznaczenie objętości osadu tworzącego się w wyniku osiadania cząstek mąki.

Wykonanie oznaczenia:

- ◆ pobrać próbkę 3,2 g mąki z dokładnością $\pm 0,05$ g,
- ◆ umieścić próbkę w cylindrze pomiarowym i dodać 50 cm³ roztworu błękitu bromofenolowego,
- ◆ zamknąć cylinder korkiem i wytrząsać w ułożeniu poziomym, wykonując ok. 12 ruchów w każdym kierunku, przez ok. 5 sekund,
- ◆ umieścić cylinder w wytrząsarce, uruchomić zegar sygnalizacyjny i wytrząsarce,
- ◆ po 5 minutach wyjąć cylinder i dodać 25 cm³ odczynnika testu sedymencacyjnego,
- ◆ ponownie umieścić cylinder w wytrząsarce i kontynuować wytrząsanie,

- ◆ po upływie 10 minut od rozpoczęcia wytrząsania wyjąć cylinder z wytrząsarki,
- ◆ umieścić cylinder w statywie (*w pozycji pionowej*),
- ◆ dokładnie po upływie 5 minut odczytać objętość osadu z dokładnością $\pm 0,5 \text{ cm}^3$,
- ◆ wynik końcowy podać w ml, w liczbach całkowitych jako średnią arytmetyczną z trzech równoległych oznaczeń (*jeżeli prowadzący zajęcia nie określi inaczej*).

Powtarzalność wyników:

Bezwzględna różnica między dwoma pojedynczymi niezależnymi wynikami oznaczeń, uzyskanymi w krótkim przedziale czasu z użyciem tej samej metody w przypadku identycznego materiału, w tym samym laboratorium, przez tego samego wykonawcę stosującego takie same wyposażenie, nie powinna być większa niż 2 jednostki.

b) oznaczenie zawartości glutenu mokrego - wg PN-A-74043-3:1994

Gluten to substancja białkowa, w składzie której dominującą rolę odgrywają

- **gliadyna należąca do prolamin,**
- **glutenina należąca do glutelin.**

Gliadyna nadaje ciastu rozciągliwość, lepkość i spoistość, natomiast gluteina – sprężystość i siłę. Gluten w zależności od jego cech reologicznych, może być mocny, normalny i słaby. Odgrywa on decydującą rolę w tworzeniu ciasta i w procesie wypieku pieczywa pszennego. Stanowi on szkielet ciasta pszennego, tj. trójwymiarową siatkę, która łączy pozostałe składniki mąki oraz substancje dodawane do ciasta. Gluten słaby zaniża objętość pieczywa, co przyczynia się do pogorszenia ogólnej jego jakości (tab. 2).

Na wynik ilości glutenu i jego jakości oznaczanego zgodnie z obowiązującą normą czynnościową wpływa wiele czynników, m. in. takich jak: sposób przygotowania ciasta, czas odleżenia przed wymywaniem, temperatura, a nawet skład chemiczny wody używanej zarówno do przygotowania i leżakowania ciasta jak i do wymywania. Istotny wpływ ma też sam sposób wymywania ciasta wraz z doprowadzeniem glutenu do stanu określonego jako „wymyty”.

Istnieją różne techniki przygotowania i wymywania glutenu, co wiąże się z uzyskiwaniem także różnych wyników. Jedne bazują na mechanicznym przygotowaniu ciasta i wymywaniu glutenu, inne na częściowo mechanicznym z

ręcznym domywaniem pod kranem. Obowiązująca norma PN-A-74043-3:1994 równoważna z normą ISO 5531, zaleca użycie do przygotowania i wymywania ciasta urządzeń mechanicznych oraz 2% solanki.

Tab. 2. Przeznaczenie mąki w zależności od jej jakości (na podstawie *Technical profile: measurement of gluten quality. World Grain, p. 24-25, October 1990*)

Przeznaczenie	GI [%]	Ilość glutenu mokrego [%]	Zawartość białka [% s.m.]	Objętość pieczywa ze 100 g mąki [cm ³]
Mąka na herbatniki	75 ± 5	21 ± 2	8,9 ± 0,2	740 ± 25
Mąka do użytku domowego	67 ± 3	24 ± 1	9,8 ± 0,3	760 ± 20
Mąka piekarska:				
słaba	72 ± 4	27 ± 2	11,2 ± 0,3	860 ± 25
średnia	77 ± 4	29 ± 1	12,1 ± 0,2	930 ± 20
specjalna	74 ± 3	31 ± 2	13,1 ± 0,2	1000 ± 20

Zasada metody:

Metoda polega na przygotowaniu ciasta z próbki mąki pszennej i roztworu chlorku sodu, a następnie wydzieleniu mokrego glutenu za pomocą wymywania go z ciasta roztworem chlorku sodu, usunięciu nadmiaru roztworu i zważeniu otrzymanej pozostałości.

Wykonanie oznaczenia:

- ◆ odważyć 10 g mąki i wsypać do kulistego pojemnika,
- ◆ dodawać stopniowo 5,5 cm³ 2% wodnego roztworu chlorku sodu i umieścić zamknięty pojemnik w mieszarce urządzenia GLUTOMATIC 2100 firmy *Falling Number* (fot. 1),
- ◆ uruchomić urządzenie,
- ◆ uformowaną „kulkę” ciasta umieścić w glutowniku urządzenia GLUTOMATIC 2100 firmy *Falling Number* (fot. 2),
- ◆ w podobny sposób przygotować drugą „kulkę” ciasta,



*Fot. 1. Miesiarka urządzenia
GLUTOMATIC 2100 firmy Falling Number*

- ◆ uruchomić urządzenie i wymywać gluten za pomocą 2% wodnym roztworem chlorku sodu wlanego uprzednio do pojemnika urządzenia,



*Fot. 2. Glutownik urządzenia
GLUTOMATIC 2100 firmy Falling Number*

- ◆ wymywanie glutenu w glutowniku trwa 10 min., a uważa się je za zakończone, gdy nadmiar roztworu chlorku sodu, wyciśnięty z „kulki” glutenu, zawiera tylko ślady skrobi (nie występuje reakcja barwna w obecności 0,001 M roztworu jodu),
- ◆ z wymytego glutenu usunąć nadmiar roztworu przylegającego do „kulki” przez trzymanie jej pomiędzy palcami jednej ręki i mocne ściskanie (trzy razy),
- ◆ pozostały jeszcze w „kulce” glutenu roztwór usunąć przez odwirowanie w specjalnej wirówce (GLUTEN CENTRIFUGE 2015) wyposażonej w kasetkę z sitkiem o oczkach $\varnothing 840 \mu\text{m}$ i prędkości obrotowej $6000 \pm 5 \text{ obr. / min.}$ (fot. 3),



Fot. 3. Wirówka urządzenia
GLUTOMATIC 2100 firmy Falling Number

- ♦ zważyć gluten z dokładnością do 0,01 g,
- ♦ obliczyć zawartość glutenu mokrego (G) wg wzoru:

$$GI = \frac{\text{masa glutenu mokrego} \times 100}{10} = 10 \times \text{masa glutenu mokrego} \quad [\%]$$

- ♦ za wynik końcowy przyjąć średnią arytmetyczną dwóch oznaczeń, przeprowadzonych równoległe lub sukcesywnie przez tego samego laboranta,
- ♦ wynik podać z dokładnością do 0,1%.

Powtarzalność wyników:

Dopuszczalna różnica pomiędzy wynikami dwóch oznaczeń, przeprowadzonych równoległe lub sukcesywnie przez tego samego laboranta, używającego tej samej aparatury, **nie powinna być wyższa niż 0,5% glutenu mokrego.**

c) oznaczenie jakości (rozptywalności) glutenu mokrego - wg PN-A-74043-3:1994

Zasada metody:

Metoda polega na określeniu zwiększenia średnicy kulki glutenu, umieszczonej w termostacie w temperaturze 30°C, po upływie 60 min.

Wykonanie oznaczenia:

- ♦ odważyć z dokładnością do 0,1 g 2 g glutenu uzyskanego wg punktu **b)**,
- ♦ uformować z niego „kulkę” z jednym „szwem”,
- ♦ „kulkę” glutenu położyć „szwem” na płytce szklanej, pod którą należy podłożyć papier milimetrowy,

- ♦ zmierzyć średnicę „kulki” w dwóch prostopadłych do siebie kierunkach,
- ♦ przyjąć jako wielkość początkową średnią arytmetyczną wyników obydwu pomiarów, z dokładnością do 1 mm,
- ♦ „kulkę” glutenu przykryć zlewką i umieścić w termostacie w temperaturze 30°C na 60 min,
- ♦ Wyjąć z termostatu płytkę z glutenem i wykonać pomiar średnicy w dwóch prostopadłych do siebie kierunkach,
- ♦ przyjąć jako wielkość końcową średnią arytmetyczną wyników obydwu pomiarów, z dokładnością do 1 mm,
- ♦ obliczyć rozplywalność glutenu mokrego (X) wg wzoru:

$$X = \text{końcowa średnica kulki} - \text{początkowa średnica kulki} \quad [\text{mm}]$$

- ♦ za wynik końcowy przyjąć średnią arytmetyczną dwóch oznaczeń, przeprowadzonych równoległe lub sukcesywnie przez tego samego laboranta,
- ♦ wynik podać z dokładnością do 1 mm.

d) oznaczenie zawartości frakcji białek spektrofotometrycznie z użyciem odczynnika Bradforda

Metoda Bradforda wykorzystuje zdolność tworzenia się kompleksu pomiędzy barwnikiem błękit brylantowy Coomassie G-250 (ang. *Coomassie Brilliant Blue*) a białkami. W środowisku kwaśnym widmo absorpcji barwnika charakteryzuje się maksimum przy 465 nm, natomiast po związaniu białka jego maksimum przesuwają się w stronę fal dłuższych i występuje przy 595 nm. Mając wyznaczoną krzywą kalibracyjną dla wzorcowego białka (np. albumina, gliadyna) można określać zawartość białka w badanej próbce poprzez pomiar zmiany absorbancji w 595 nm roztworu barwnika po dodaniu do niego badanej próbki.

Zasada metody:

Metoda polega na oznaczeniu zawartości trzech frakcji białek: albuminy+globuliny, prolaminy oraz gluteliny, przez pomiar absorbancji przy długości fali $\lambda=595$ nm przygotowanych ekstraktów tych frakcji i obliczeniu ich zawartości na podstawie krzywej wzorcowej sporządzonej dla określonego rodzaju białka.

Wykonanie oznaczenia:

- ♦ odważyć 100 mg próbki do próbówki eppendorfa,

- ◆ przeprowadzić ekstrakcję albumin i globulin, w następujący sposób:
 - a) do probówki z mąką dodać 1 ml roztworu I ($0,4 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaCl} + 0,067 \text{ mol/dm}^3 \text{ HKNaPO}_4$ o pH 7,6),
 - b) zamknąć probówkę i energicznie wstrząsnąć do całkowitego wymieszania jej zawartości,
 - c) umieścić probówkę w termomikserze i nastawić warunki mieszania: czas 10 min, temperatura 20°C , prędkość 12000 obr/min,
 - d) homogenat odwirować w wirówce przez 5 min przy prędkości obrotowej 16000 obr/min,
 - e) zlać roztwór z nad osadu do drugiej probówki,
 - f) do osadu dodać ponownie 1 ml roztworu I, i powtórzyć ekstrakcję w sposób opisany powyżej,
 - g) oba ekstrakty połączono,
- ◆ przeprowadzić ekstrakcję gliadyn, w następujący sposób:
 - a) do probówki z osadem pozostałym po ekstrakcji frakcji albumin i globulin dodać 1 ml roztworu II (60% etanol),
 - b) zamknąć probówkę i energicznie wstrząsnąć do całkowitego wymieszania jej zawartości,
 - c) umieścić probówkę w termomikserze i nastawić warunki mieszania: czas 10 min, temperatura 20°C , prędkość 12000 obr/min,
 - d) homogenat odwirować w wirówce przez 5 min przy prędkości obrotowej 16000 obr/min,
 - e) zlać roztwór z nad osadu do drugiej probówki,
 - f) do osadu dodać ponownie 1 ml roztworu II, i ekstrakcję powtórzyć w sposób opisany powyżej,
 - g) oba ekstrakty połączono,
- ◆ przeprowadzić ekstrakcję glutenin, w następujący sposób:
 - a) do probówki z osadem pozostałym po ekstrakcji frakcji gliadyn dodać 1 ml roztworu III ($50\% \text{ propanol-1} + 2 \text{ mol/dm}^3 \text{ mocznik} + 0,05 \text{ mol/dm}^3 \text{ Tris-HCl}$ o pH 7,5 + 1% DTE),
 - b) zamknąć probówkę i energicznie wstrząsnąć do całkowitego wymieszania jej zawartości,
 - c) umieścić probówkę w termomikserze i nastawić warunki mieszania: czas 10 min, temperatura 60°C , prędkość 12000 obr/min, ekstrakcję prowadzić w obecności gazu obojętnego, np. azotu, wprowadzając go do probówki po wymieszaniu zawartości probówki,

- d) homogenat odwirować w wirówce przez 5 min przy prędkości obrotowej 16000 obr/min,
 - e) zlać roztwór z nad osadu do drugiej probówki,
 - f) do osadu dodać ponownie 1 ml roztworu III, i powtórzyć ekstrakcję w sposób opisany powyżej,
 - g) oba ekstrakty połączono,
- ◆ przeprowadzić reakcję barwną z odczynnikiem Bradforda, w następujący sposób:
 - a) do probówek szklanych pobrać po 100 μ l ekstraktu frakcji białek i dodać 5 ml odczynnika Bradforda, uprzednio rozcieńczonego wodą dejonizowaną w stosunku 1:4 i przesączonego przez podwójny sączek,
 - b) zawartość probówki wymieszać; w zależności od stężenia białka w próbce obserwuje się zabarwienie roztworu od szaroniebieskiego do intensywnie niebieskiego,
 - ◆ zmierzyć absorbancję otrzymanych barwnych roztworów przy użyciu spektrofotometru, przy długości fali $\lambda=595$ nm wobec próby zerowej, sporządzonej w ten sam sposób, zastępując 100 μ l próbki właściwej 100 μ l wody dejonizowanej,
 - ◆ odczytać z krzywej wzorcowej zawartość poszczególnych frakcji białek w roztworze (rys. 1),
 - ◆ jako wynik końcowy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwóch równoległych oznaczeń, w przeliczeniu na 100 g mąki,
 - ◆ wynik podać z dokładnością do 0,01 g.

d) analiza sekwencji wybranych białek roślinnych

- analiza długości białka,
- analiza domen strukturalnych w białku (rys. 2),



S-N - terminalny peptyd sygnałowy, R- domena powtarzalna, NR1 i NR2 – długie domeny niepowtarzalne (zawierają 5 reszt cysteiny – oznaczone jako pionowe linie) Q1 i Q2 – domeny bogate w glutaminę

Rys. 2. Struktura białka

- analiza zawartości aminokwasów (tab. 3):
 - ✓ niepolarnych,
 - ✓ polarnych z ładunkiem,
 - ✓ cysteiny,
 - ✓ proliny,
 - ✓ glutaminy,
 - ✓ tryptofanu, tyrozyny i fenyloalaniny,
- wyznaczenie hydrofobowości białka ze skali Kyte-Doolittle (tab. 4).

Tab. 3. Polarność aminokwasów

	NONPOLAR, HYDROPHOBIC	R GROUPS	POLAR, UNCHARGED	
Alanine Ala A MW = 89	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_3 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{H} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Glycine Gly G MW = 75
Valine Val V MW = 117	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH} \begin{matrix} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_3 \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{HO} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Serine Ser S MW = 105
Leucine Leu L MW = 131	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} \begin{matrix} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_3 \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Threonine Thr T MW = 119
Isoleucine Ile I MW = 131	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH} \begin{matrix} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{HS} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Cysteine Cys C MW = 121
Phenylalanine Phe F MW = 131	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Tyrosine Tyr Y MW = 181
Tryptophan Trp W MW = 204	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{NH}_2 \\ \\ \text{O} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Asparagine Asn N MW = 132
Methionine Met M MW = 149	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{CH}_3 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{NH}_2 \\ \\ \text{O} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Glutamine Gln Q MW = 146
Proline Pro P MW = 115	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \\ \text{HN} - \text{CH}_2 \end{matrix}$		POLAR BASIC $\begin{matrix} \text{NH}_3^+ - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Lysine Lys K MW = 146
Aspartic acid Asp D MW = 133	POLAR ACIDIC $\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O})\text{O}^- \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{NH}_2 \\ \\ \text{N H}_2^+ = \text{C} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Arginine Arg R MW = 174
Glutamine acid Glu E MW = 147	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O})\text{O}^- \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{C}_5\text{H}_4\text{N}_2 \\ \\ \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{matrix}$	Histidine His H MW = 155

Tab. 4. Indeksy hydrofobowości aminokwasów

Res.	Kyte-Doolittle	Eisenberg <i>i inn.</i>	Rose <i>i inn.</i>	Janin	Wolfenden <i>i inn.</i>
Ala	1.800	0.620	0.740	0.300	1.940
Arg	-4.500	-2.530	0.640	-1.400	-19.920
Asn	-3.500	-0.780	0.630	-0.500	-9.680
Asp	-3.500	-0.900	0.620	-0.600	-10.950
Cys	2.500	0.290	0.910	0.900	-1.240
Gln	-3.500	-0.850	0.620	-0.700	-9.380
Glu	-3.500	-0.740	0.620	-0.700	-10.200
Gly	-0.400	0.480	0.720	0.300	2.390
His	-3.200	-0.400	0.780	-0.100	-10.270
Ile	4.500	1.380	0.880	0.700	2.150
Leu	3.800	1.060	0.850	0.500	2.280
Lys	-3.900	-1.500	0.520	-1.800	-9.520
Met	1.900	0.640	0.850	0.400	-1.480
Phe	2.800	1.190	0.880	0.500	-0.760
Pro	-1.600	0.120	0.640	-0.300	0.000
Ser	-0.800	-0.180	0.660	-0.100	-5.060
Thr	-0.700	-0.050	0.700	-0.200	-4.880
Trp	-0.900	0.810	0.850	0.300	-5.880
Tyr	-1.300	0.260	0.760	-0.400	-6.110
Val	4.200	1.080	0.860	0.600	1.990

6. Analiza wyników

Uzyskane wyniki zestawić w formie 3 tabel. Wyznaczyć wartości średnie i odchylenia standardowe.

Tabela I. Wyniki analizy próbki mąki

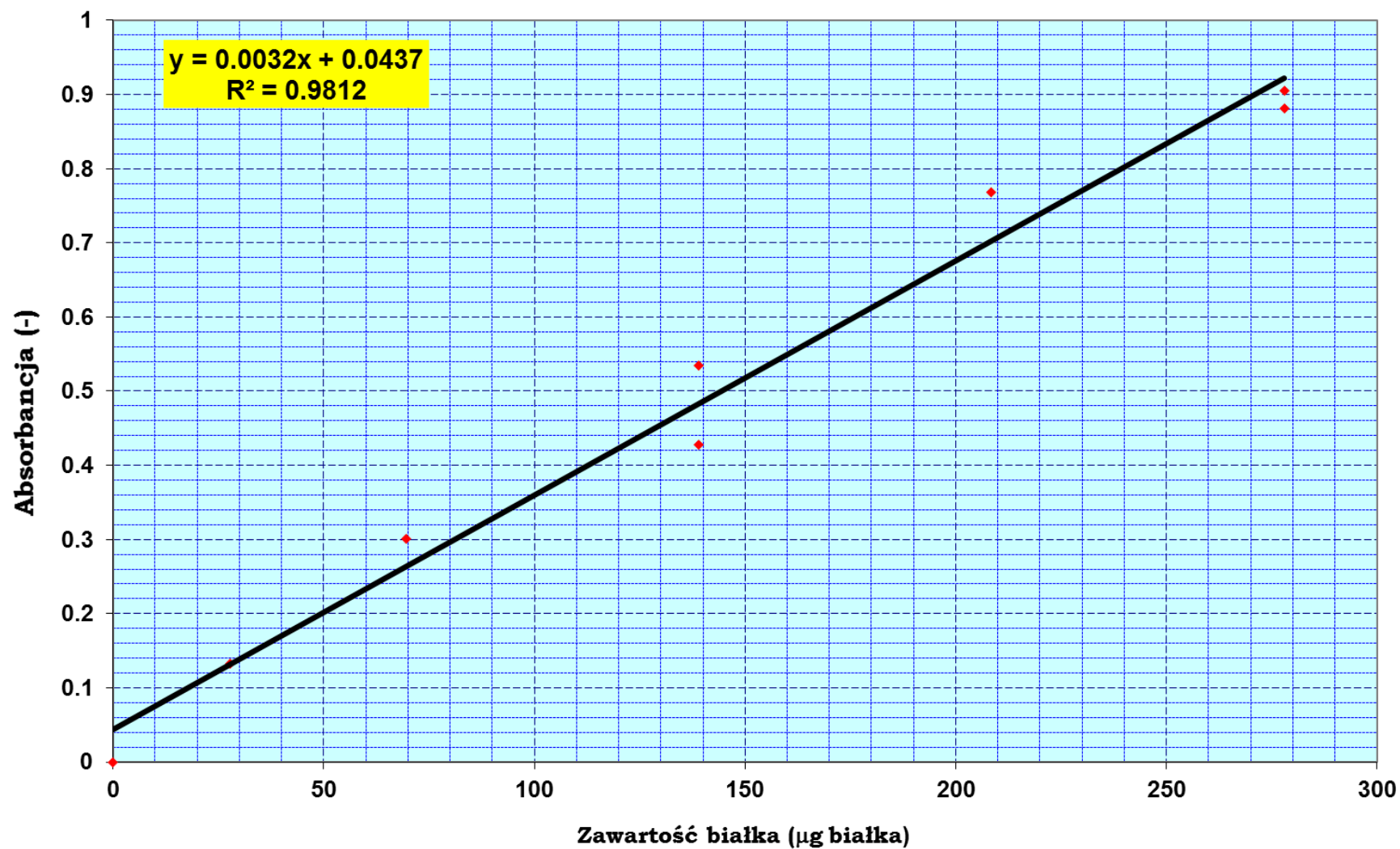
Wyróżnik	Jednostka a	Wynik analizy		Wartość średnia \bar{x}	Odchylenie standardowe e \hat{s}
		X ₁	X ₂		
Wskaźnik sedymentacyjny	ml				
Zawartość glutenu	%				
Rozpływalność glutenu	mm				
Zwartość frakcji białek: - - albuminy+globuliny, - prolaminy, - gluteliny	mg/100 g				

Tabela II. Zbiorcza zestawienie wyników analiz próbek mąk.

Wyróżnik	Jednostka a	Mąka nr 1		Mąka nr 2		Mąka nr 3		Mąka nr 4	
		\bar{x}	\hat{s}	\bar{x}	\hat{s}	\bar{x}	\hat{s}	\bar{x}	\hat{s}
Wskaźnik sedymentacyjny	ml								
Zawartość glutenu	%								
Rozpływalność glutenu	mm								
Zwartość frakcji białek:	mg/100 g								
- albuminy+globuliny,									
- prolaminy,									
- gluteliny									

Tabela III. Charakterystyka białka

	Nazwa polipeptydu			
Długość				
Domeny powtarzalne				
Domeny niepowtarzalne				
Hydrofobowość				
Udział aminokwasów [%]				
Niepolarne				
Polarne z ładunk.				
Cysteina				
Prolina				
Glutamina				
Tyr Trp Phe				



Rys. 1. Krzywa wzorcowa sporządzona na podstawie roztworów albuminy o różnym stężeniu

ĆWICZENIE NR 2

1. Temat ćwiczenia

Podstawowe metody analiz oraz charakterystyka skrobi/węglowodanów w surowcach i żywności pochodzenia roślinnego

2. Cel ćwiczenia

Zapoznanie z metodami analiz ilości i jakości skrobi:

- zawartość skrobi,
- lepkość roztworów skrobiowych,
- aktywność enzymów amylolitycznych.

3. Materiał badań

- 4 różne typy mąki – razowa, wyciągowa, pszenna, żytnia
- 4 próbki mąki pszennej o wzrastającej od 0 do 30 % udziale skrobi ziemniaczanej (0, 10, 20 i 30%)

Każda próbka o masie 200 g

4. Zadania do wykonania

- oznaczenie zawartości skrobi
- oznaczenie lepkości amylograficznej
- oznaczenie aktywności alfa-amylazy
- oznaczanie lepkości w reometrze oscylacyjnym

5. Sposób wykonania ćwiczenia

a) oznaczenie skrobi w roztworze kwasu solnego

Odczynniki:

- kwas solny o c.wł. 1,19 i 1,125
- Carrez I
- Carrez II

Wykonanie oznaczenia:

2,5g rozdrobnionej próbki rozetrzeć w zlewce o pojemności 100-150 cm³ z 10 cm³ wody destylowanej i dodać 20 cm³ stężonego (c. wł. 1,19) kwasu solnego, dokładnie wymieszać i pozostawić na ½ h. Po tym czasie całą próbę przenieść

ilościowo do kolby miarowej o pojemności 100 cm³ popłukując zlewkę trzykrotnie kwasem solnym o c w.1,125, używając do tego celu za każdym razem 10 cm³ kwasu (**nie uzupełniać do kreski**)

Odbiałczanie:

Do kolbki zawierającej badaną próbkę dodać **20 cm³** carreza I, delikatnie wymieszać i odstawić na 5 min, po tym czasie dodać **20 cm³** carreza II delikatnie wymieszać i pozostawić na 15 min. **Uzupełnić do kreski** używając do tego celu kwasu solnego o c w.1,125 wymieszać i sączyć przez pofałdowany sączek (**twardy**). Otrzymany przesącz oznaczyć polarymetrycznie w rurce o długości 20 cm (fot. 4).



Fot. 4. Polarymetr

Obliczanie wyników:

Mnożąc odczytany kąt skręcenia płaszczyzny polaryzacji przez 0,2475 uzyskuje się wartość skrobi w gramach w analizowanej naważce. Mnożąc natomiast przez 9,90 otrzymuje się procentową zawartość skrobi w badanym produkcie. **Zawartość skrobi obliczyć w g/100g**. Za wynik końcowy przyjmuje się średnią arytmetyczną z przynajmniej dwóch równoległych oznaczeń.

b) oznaczanie lepkości w amylografie Brabendera

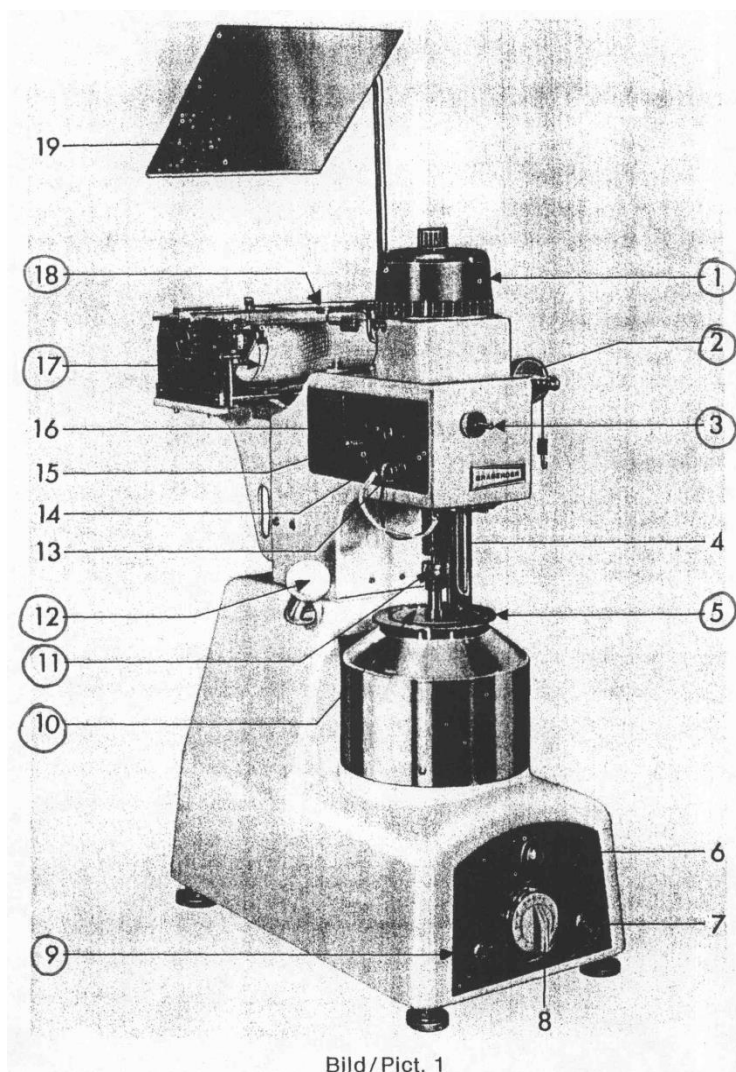
Amylograf (fot. 5) przeznaczony jest głównie do badania mąki żytniej. Służy on do określania aktywności enzymów amylolytycznych zawartych w mące oraz badania zdolności skrobi do kleikowania. W zależności od aktywności enzymów i jakości skrobi uzyskuje się charakterystyczne wykresy - amylogramy, na podstawie których klasyfikuje się badaną mąkę.

Do innych celów amylograf stosowany jest raczej rzadko. Brabender zaleca stosowanie amylografii do oceny mąk pszennych, co przy równoczesnej ocenie mąki za pomocą farinografu i ekstensografu pozwala dokładniej i wnikliwiej ocenić jej wartość wypiekową.



Fot. 5. Amylograf Brabendera z elektroniczną kontrolą temperatury

Zasadniczym elementem amylografu (rys. 3) jest naczynie pomiarowe (5), posiadające metalowe bolce przymocowane do jego dna. Naczynie pomiarowe umieszcza się na pionowej osi, poruszanej przez silnik elektryczny umieszczony w korpusie aparatu. Po włączeniu aparatu następuje obracanie naczynia pomiarowego, w kierunku zgodnym z ruchem wskazówek zegara, a bolce znajdujące się w naczyniu wprawiają badaną zawiesinę mąki w ruch wirowy. Wytworzone wiry są przenoszone na bolce umocowane w wieku naczynia pomiarowego (10), połączonym z wolno wiszącą osią pionową. Oś wieka (11) zakończona jest sprężyną lub przeciwwagą (1), która zapobiega obrotowi osi (a tym samym i wieka) w kierunku obrotu naczynia pomiarowego. Po włączeniu (9) silnika aparatu jednocześnie następuje obracanie naczynia pomiarowego i zaczyna pracować ogrzewacz elektryczny. Odłączenie wieka od jego osi pionowej i naczynia pomiarowego następuje po podniesieniu za pomocą dźwigni (12) głowicy aparatu (3) do góry, co wykonuje się przy przenoszeniu zawiesiny mąki do naczynia pomiarowego lub przy jego opróżnianiu po wykonanym oznaczeniu. W miarę wzrostu temperatury wzrasta lepkość zawiesiny, a tym samym opór stawiany bolcom wieka i tendencja do obrotu wokół osi. Do osi wieka przymocowany jest, w górnej jej części, grafion (18) urządzenia samopiszącego (17) i przenoszącego zmiany oporów i lepkości na taśmę papieru rejestracyjnego przesuwającą się z prędkością 0.5 cm na minutę. Temperatura zawiesiny kontrolowana jest przez elektroniczny czujnik. W czasie oznaczenia wzrost temperatury zawiesiny jest stały i wynosi 1.5°C na minutę.



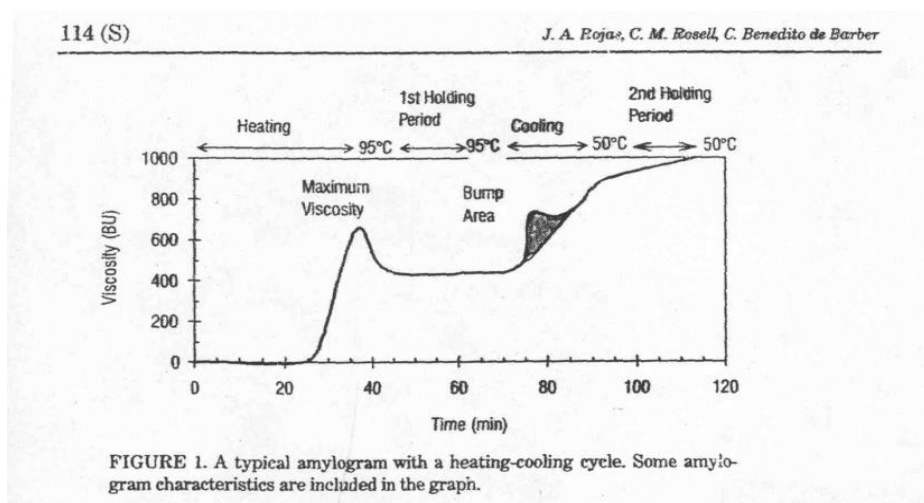
Rys. 3. Budowa amylografu Brabendera

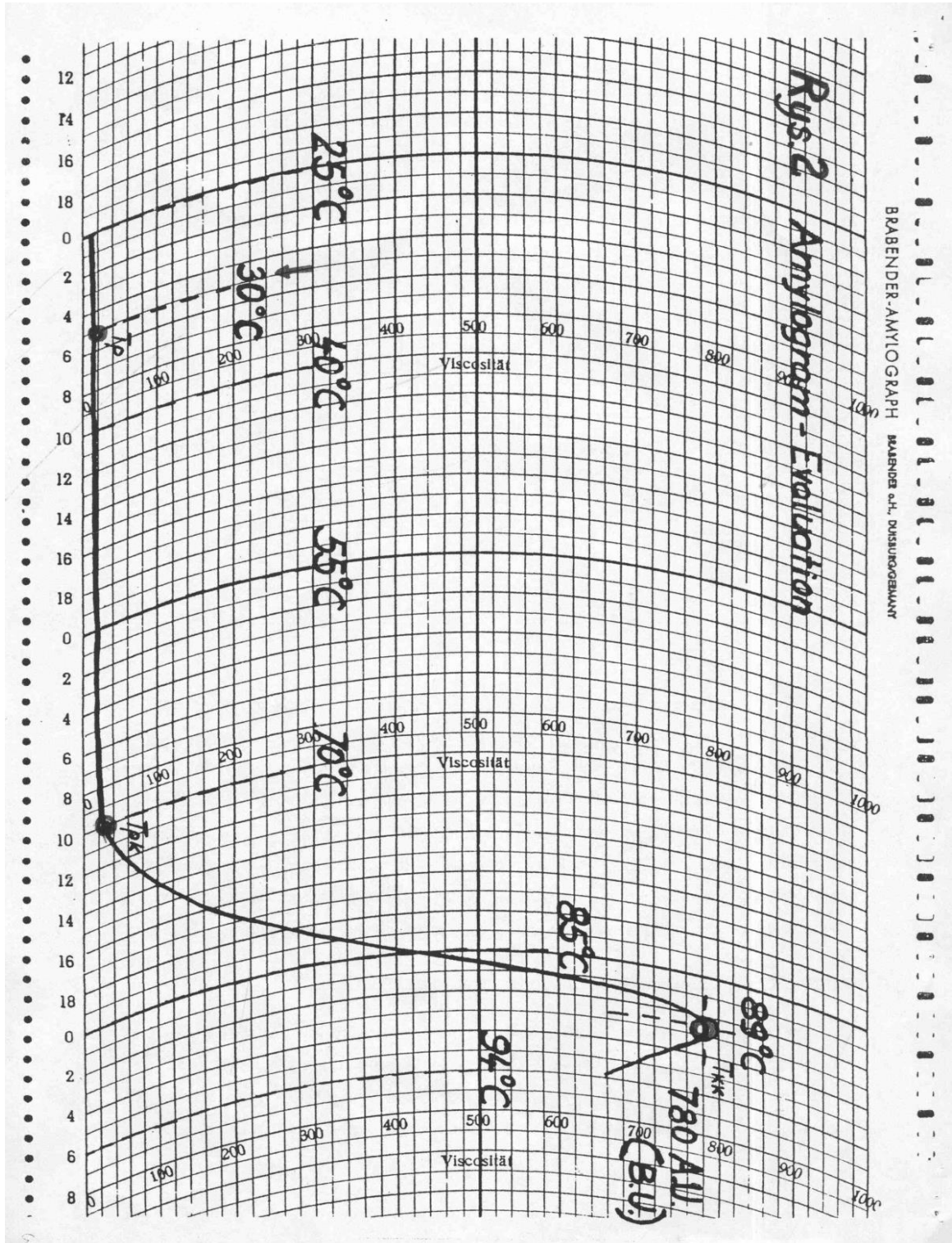
Oznaczenie amylograficzne rozpoczyna się obecnie od 30°C (tp - temperatura początkowa pomiaru), zgodnie ze standardem ICC Nr 126. Temperaturę ustawia się elektronicznym czujnikiem. Początkowo, ze względu na mniej więcej stałą lepkość zawiesiny wykres przebiega na jednym poziomie (rys. 4). W niektórych przypadkach może nastąpić minimalne wzniesienie się i opadnięcie krzywej spowodowane pęcznieniem skrobi. Gdy temperatura osiągnie 55-65°C następuje gwałtowny wzrost lepkości zawiesiny, spowodowany silnym pęcznieniem i kiełkowaniem skrobi. Najpierw zaczynają kleikować duże granule skrobiowe. Szybciej kleikują również te uszkodzone mechanicznie. Dlatego w praktyce podaje się zakres temperatur kiełkowania skrobi (tab. 5):

Tab. 5. Zakresy temperatur kiełkowania skrobi zbożowej

Rodzaj skrobi zbożowej	Początek kiełkowania		Koniec kiełkowania	
	średnio w °C	wahania w °C	średnio w °C	wahania w °C
pszenna	60	59-61	88	80-98
żytnia	56	40-62	62	60-88

Krzywa zaczyna wznosić się do góry. Temperaturę, przy której następuje początek kiełkowania (t_{pk}) można odczytać wprost z elektronicznego czujnika temperatury podczas pomiaru lub obliczyć ją posługując się danymi odczytanymi z wykresu. W wyniku dalszego podwyższenia temperatury pomiaru następuje rozkład skrobi i zmniejszenie lepkości zawiesiny, co powoduje, że krzywa po osiągnięciu maksimum zaczyna opadać. W tym momencie odczytuje się temperaturę końcową kiełkowania (t_u) lub, podobnie jak poprzednio, oblicza posługując się danymi odczytanymi z wykresu. Z wykresu odczytuje się również maksymalną lepkość zawiesiny ($[T]_{max}$) wyrażając ją w umownych jednostkach Brabendera (j-B. - B.U.).

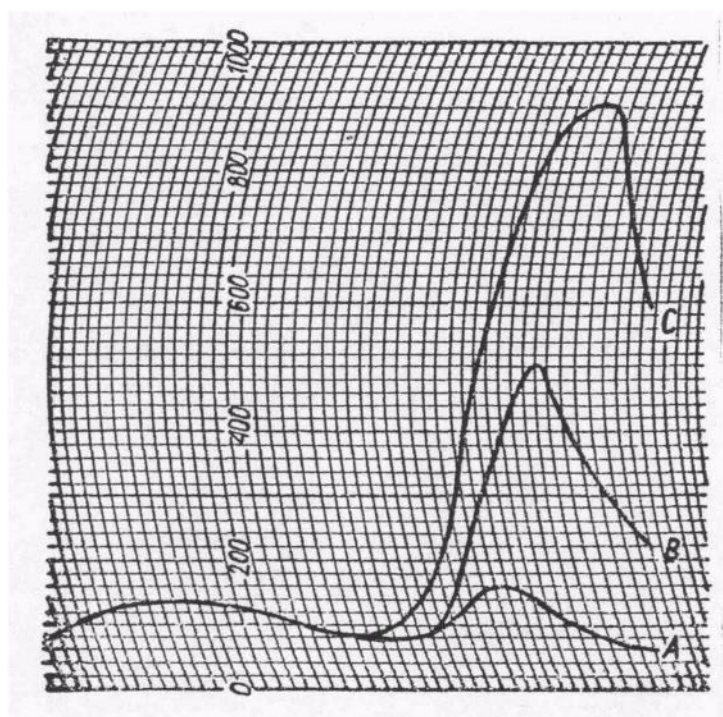




Rys. 4. Przykładowy amylogram

Analiza krzywych amylograficznych i interpretacja wyników badań

Na rysunku 5 przedstawione są charakterystyczne amylogramy dla mąk żytnich o różnej wartości technologicznej. Mąka żytnia, w której na skutek procesów enzymatycznych nastąpił rozkład skrobi (np. mąka z ziarna porośniętego) charakteryzuje się wykresem niskim (A). Chleb z takiej mąki ma wilgotny i zbity mięksisz, może również wystąpić zakalec i odstająca skórka. Z tego rodzaju mąkami mamy w Polsce często do czynienia ze względu na porastanie, zwłaszcza ziarna żyta.



Rys. 5 Amylogramy mąki żytniej

Na skutek porostu ziarna następuje wzrost aktywności enzymów (przede wszystkim α - amylazy), co w efekcie prowadzi do rozkładu skrobi do dekstryn i maltozy, a tym samym do gwałtownego spadku lepkości zawiesiny mąki żytniej w podwyższonej temperaturze. Tak więc metoda amylograficzna może być wykorzystywana do oceny stopnia porostu ziarna. W przypadku, gdy mąka będzie zawierała skrobię trudno rozkładającą się, przy jednoczesnej niskiej aktywności zawartych w mące enzymów, wykres amylograficzny będzie stromy i wysoki, znacznie przekraczający wartość 500 j.B. (C). Chleb z takiej mąki będzie miał złą porowatość mięksiszu, małą objętość, odstającą i popękaną skórkę. Będzie on również szybciej czerstwiał. Mąka o dobrych właściwościach wypiekowych, zawierająca skrobię o normalnej zdolności do pęcznienia i kleikowania, charakteryzuje się wykresem stromo wznoszącym się do góry i osiąga optymalną lepkość

w granicach 500 j.B. (B). Chleb z takiej mąki będzie miał miększy pulchny o dużej i równomiernej porowatości i ściśle przylegającej do niego skórce.

Po dokonaniu odczytu charakterystycznych danych z otrzymanego wykresu, oceny wyników badań amylograficznych dokonujemy porównując je z danymi zawartymi w tabeli 6.

Tab. 6. Ocena właściwości wypiekowych mąki żytniej w zależności od lepkości zawiesiny mąki

Zakres lepkości kleiku mącznego w j. B.	Określenie właściwości wypiekowych mąki żytniej
0 - 100	mąka nie nadaje się do wypieku, pochodzi z ziarna silnie porośniętego
100 - 250	mąka nadaje się do wypieku po sporządzeniu odpowiedniej mieszanki lub przy stosowaniu „polepszaczy” (np. kwas askorbinowy, kwas mlekowy)
250 - 350	mąka nadaje się do wypieku przy zastosowaniu podczas fermentacji większej kwasowości ciasta, przy produkcji pieczywa mieszanego na drożdżach ilość mąki żytniej powinna wynosić nie więcej niż 25 [^] 30%
350 - 650	mąka ma dobre właściwości wypiekowe, nadaje się do produkcji pieczywa na zakwasie oraz pieczywa mieszanego na drożdżach
650 -r- 800	mąka nie nadaje się do produkcji pieczywa na zakwasie, natomiast nadaje się do produkcji pieczywa na drożdżach

Wykonanie oznaczenia:

- Przygotuj do pracy urządzenie rejestrujące amylografu Brabendera. Rolka z papierem rejestracyjnym powinna być tak umieszczona, aby linia oznaczająca O j.B. znajdowała się z lewej strony. Zdejmij nakrętkę osłaniającą pisak grafionu. Sprawdź, czy taśma rejestracyjna jest prawidłowo założona. W tym celu spowoduj wychylenie się grafionu i narysuj linię. Jeżeli będzie ona równoległa do osi rzędnych taśmy, świadczy to o poprawnym założeniu, nie wymagającym przesunięć na trybach kół transmisyjnych.
- Włącz przyciskiem „on” elektroniczny termoregulator (fot. 6). Wyświetlacz urządzenia pokaże aktualną temperaturę, przeważnie jest to temperatura otoczenia, bo trzpień czujnika elektronicznego termoregulatora znajduje się na razie w pustym naczyniu pomiarowym.

- Udostępnij amylograf do wykonania oznaczenia. Dźwignią znajdującą się z lewej strony (rys. 3 – nr 12) podnieś górną część aparatu. Dźwignię należy opuszczać do dołu, trzymając ją lewą ręką. Obróć górną część aparatu na jego osi w prawo. Zwolnij zaciski mocujące wieko naczynia pomiarowego na jego osi i odłącz wieko.
- Przygotuj wodną zawiesinę badanej mąki. Odważ 80g mąki o wilgotności standardowej 14%. W przypadku, gdy wilgotność jest inna niż 14% skorzystaj z tabeli 7, w której podano wielkość naważki mąki do oznaczeń amylograficznych, zależnie od jej wilgotności.
- Napełnij specjalną biuretę o poj. 450 cm³ wodą destylowaną. Ze względu na konstrukcję biurety nadmiar wody będzie odpływać, a poziom zawsze będzie odpowiadał zaznaczonej objętości 450 cm³. Odważoną mąkę przesyp do specjalnej plastikowej zlewki. Wodę z biurety dodawaj 3 porcjami po około 100 cm³. Wymieszaj dokładnie zawiesinę tak, żeby była jednolita i pozbawiona grudek mąki. Posługuj się specjalnie przeznaczoną do tego celu stalową łopatką. Przygotowanie zawiesiny nie powinno być dłuższe niż 2 min. Zawiesinę mąki wlej do naczynia pomiarowego amylografu. Popłucz zlewkę pozostałą wodą z biurety i przelej wszystko do naczynia pomiarowego. Staraj się, żeby podczas przelewania powstało jak najmniej piany.
- Naczynie pomiarowe amylografu przykryj wiekiem Obróć górną część aparatu w lewo, nad naczynie pomiarowe. Trzymając mocno dźwignię delikatnie opuść głowicę i połącz wieko naczynia pomiarowego z jego osią przez zaciśnięcie zacisków znajdujących się na niej.
- Włącz silnik amylografu (rys. 3 – nr 9), naczynie pomiarowe zacznie się obracać, jednocześnie włączy się ogrzewacz elektryczny. Kiedy wyświetlacz elektronicznego termoregulatora pokaże temp. 30°C naciśnij przycisk „start” (fot. i zaznacz początek pomiaru na taśmie rejestracyjnej wychylając w prawo pisak grafionu (rys. 4).
- Oznaczenie prowadź do osiągnięcia temperatury 93 °C (czas trwania oznaczenia 45 min.). Następnie naciśnij przycisk „stop” termoregulatora i wyłącz silnik amylografu (fot. 6).

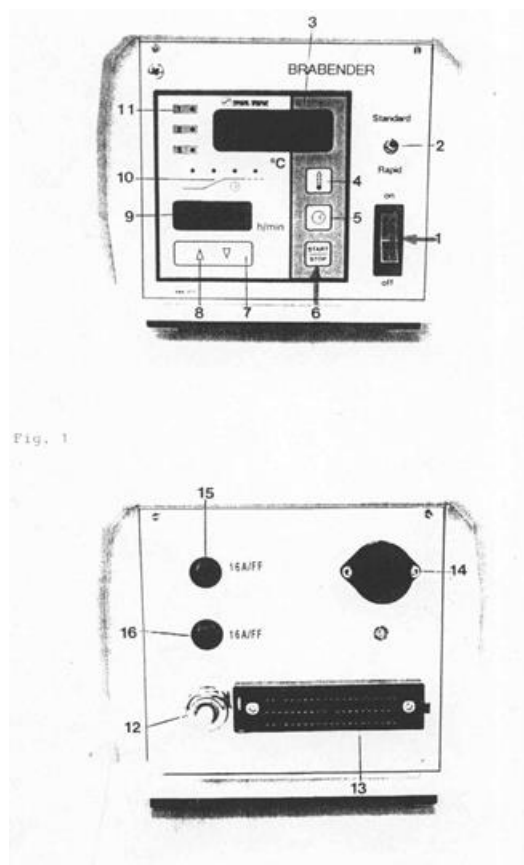
Tab. 7. *Wielkości naważki mąki do oznaczeń amylograficznych, zależnie od jej wilgotności*

Table for 80 g Flour

flour weights based on 14 % moisture content

water content %	flour weight g	water content %	flour weight g
8.0	74.7	13.0	79.08
8.1	8	13.1	79.17
8.2	74.86	13.2	79.26
8.3	74.9	13.3	79.35
8.4	4	13.4	79.45
8.5	75.02	13.	79.54
8.6	75.11	5	79.63
8.7	75.19	13.	79.72
8.8	75.27	6	79.82
8.9	75.3	13.	79.90
	6	7	
9.0	75.4	13.	80.00
9.1	5	8	80.09
9.2	75.5	13.9	80.19
9.3	3		80.28
9.4		14.0	80.37
9.5	75.61	14.1	80.47
9.6	75.69	14.	80.56
9.7	75.77	2	80.66
9.8	75.86	14.	80.75
9.9	75.94	3	80.85
	76.02	14.4	
10.0	76.10	14.5	80.94
10.1	76.19	14.	81.04
10.2	76.27	6	81.13
10.3	76.36	14.	81.23
10.4		7	81.32
10.5	76.45	14.	81.42
10.6	76.53	8	81.52
10.7	76.62	14.	81.62
10.8	76.70	9	81.71
10.9	76.78		81.81
	76.87	15.0	
H.O	76.96	15.1	81.90
11.1	77.05	15.2	82.10
11.2	77.13	15.3	82.10
11.3	77.22	15.4	82.20
1		15.5	82.30
(.4	77.30	15.6	82.40
11.5	77.39	15.7	82.49
11.	77.48	15.8	82.59
6	77.56	15.9	82.69
11.7	77.65		82.79
11.8	77.74	16.0	
11.9	77.82	16.1	82.89
	77.93	16.2	82.99
12.0	78.00	16.3	83.09
12.1	78.09	16.4	83.19
12.2		16.5	83.29
12.3	78.18	16.6	83.39
12.4	78.27	16.7	83.50
12.5	78.36	16.8	83.60
12.6	78.45	16.9	83.70
12.7	78.54		83.80
12.8	78.63	17.0	

- Podnieś górną część aparatu, przy jednoczesnym zwolnieniu wieka naczynia pomiarowego. Uważaj, żeby się nie poparzyć ! Wyjmij naczynie pomiarowe, umyj je i wytrzyj do sucha. Delikatnie wymyj i wytrzyj czujnik elektronicznego termoregulatora.
- Ponownie złóż amylograf.
- Przesuń taśmę tak, aby wykres znalazł się poza przecinaczem, po czym odetnij wykres.



Fot. 6. Elektroniczny termoregulator

- Przeprowadź ocenę badanej mąki na podstawie uzyskanego wykresu. Właściwą powtarzalność pomiaru uzyskuje się wtedy, kiedy różnica w oznaczeniach nie jest większa niż 20 j.B. Może się zdarzyć, że próby mąki mają tak wysoką lepkość, że krzywa przekracza 1000 j.B. i nie mogą być analizowane. W takim przypadku przebieg krzywej można utrzymać między 500 a 1000 j.B. przez umieszczenie dodatkowego obciążenia (rys. 3 – nr 2) po prawej stronie głowicy aparatu (zniesienie punktu zerowego). Jeżeli obciążamy masą np. 125 g i po oznaczeniu krzywa pokazuje lepkość maksymalną 700 j.B., to znaczy, że lepkość wynosi 1200 j.B. (125 g obciążenia powoduje zniesienie lepkości z 1000 do 500 jednostek).

Literatura

1. Instrukcja obsługi amylografu Brabendera z elektroniczną kontrolą temperatury. ICC Standard No. 126. BRABENDER® OHG DUISBURG 1970...1992.
2. Haber T., A. Horubałowa, 1992, Analiza techniczna w przetwórstwie zbóż, WS i P, W-wa, str. 140-144, 154-156, 157.
3. Horubałowa A., T. Haber, 1994, Analiza techniczna w piekarstwie, WS i P, W-wa, str. 45-56.
4. Jakubczyk T., T. Haber, 1981, Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Skrypty SGGW-AR, W-Wa, str. 215-219, 240-241.

c) Oznaczanie lepkości/aktywności alfa-amylazy w urządzeniu Falling Number

Liczba opadania – całkowity czas, w sekundach, począwszy od zanurzenia próbki wiskozymetrycznej we wrzącej wodzie, niezbędny dla działania mieszadła wiskozymetrycznego w określony sposób i następnie umożliwiający opadanie mieszadła, na uprzednio ustaloną odległość, w kleiku przygotowanym z wody i mąki lub z całego rozdrobnionego produktu zbożowego umieszczonego w próbówce wiskozymetrycznej.

Liczba opadania zbóż i przetworów jest miernikiem aktywności enzymu α -amylazy, która w ziarnach prawidłowo dojrzałych i zebranych w suchych warunkach występuje w niewielkich ilościach. W warunkach podwyższonej wilgotności zbóż (>15%), szczególnie przy zbiorach w niesprzyjających warunkach atmosferycznych, występuje uaktywnienie α -amylazy powodującej groźne w skutkach uszkodzenie skrobi. Ciasto z takich mąk nabiera niekorzystnych właściwości fizykochemicznych, nie gwarantujących otrzymania dobrego pieczywa. Stąd też znajomość stopnia uszkodzenia zbóż i ich przetworów pozwala na inną kwalifikację i przeznaczenie zbóż (tab. 8).

Tab. 8. Interpretacja wyników liczby opadania wg ZBPP

Grupa	Liczba opadania		Wniosek	Zalecenia technologiczne
	mąka			
	pszenna [s]	żytnia [s]		
1	< 80	< 70	bardzo wysoka aktywność α -amylazy	mąka nie nadaje się do bezpośredniego wypieku. W małych ilościach można ją mieszać z grupą 4.
2	90 - 150	75 - 100	wysoka aktywność α -amylazy	Nadaje się do sporządzania mieszanek z grupą 4.
3	170 - 200	125 - 200	średnia aktywność α -amylazy	Odpowiednia do wypieku
4	> 300	> 250	niska aktywność α -amylazy	Mąka żytnia nie nadaje się do bezpośredniego wypieku pieczywa o wysokim stopniu ukwaszenia. Należy ją stosować do produkcji pszenno-żytniej bądź mieszanek z grupą 2 lub 1. Mąkę pszenną należy wymieszać z grupą 2 lub 1. W wyjątkowych przypadkach można użyć do gatunków pieczywa z dużymi ilościami cukru.
5	60 - 750	60 - 400	spotykane wahania wartości	

Wykonanie oznaczenia:

- W zależności od wilgotności mąki naważyć odpowiednią ilość próbki z dokładnością $\pm 0,05$ g i przenieść do próbówki wiskozymetrycznej.
- Dodać 25 ml wody destylowanej o temperaturze ok. $20 \pm 5^\circ\text{C}$, zamknąć próbówkę gumowym korkiem i sporządzić homogeniczną zawiesinę poprzez intensywne wstrząsanie. Śrutę przylegającą do wewnętrznych ścianek próbówki zepchnąć do zawiesiny.
- Wyjąć korek i umieścić w próbówce mieszadło.
- Probówkę z włożonym mieszadłem wiskozymetrycznym wstawić do gotującej łaźni wodnej (fot. 7). Silnik mieszadła startuje po 5 sekundach.
- Mieszadło po 60 s wyłącza się w najwyższym martwym punkcie i opada swobodnie przez rozgrzaną wodną zawiesinę mąki.

Tab. 9. Ilość mąki do oznaczania liczby opadania
w zależności od jej wilgotności

Wilgotność [%]	Naważka [g]	Wilgotność [%]	Naważka [g]
9,0	6,40	14,0	6,90
9,2	6,45	14,2	6,90
9,4	6,45	14,4	6,95
9,6	6,45	14,6	6,95
9,8	6,50	14,8	7,00
10,0	6,50	15,0	7,00
10,2	6,55	15,2	7,00
10,4	6,55	15,4	7,05
10,6	6,55	15,6	7,05
10,8	6,60	15,8	7,10
11,0	6,60	16,0	7,10
11,2	6,60	16,2	7,15
11,4	6,65	16,4	7,15
11,6	6,65	16,6	7,15
11,8	6,70	16,8	7,20
12,0	6,70	17,0	7,20
12,2	6,70	17,2	7,25
12,4	6,75	17,4	7,25
12,6	6,75	17,6	7,30
12,8	6,80	17,8	7,30
13,0	6,80	18,0	7,30
13,2	6,80		
13,4	6,85		
13,6	6,85		
13,8	6,90		

- Kiedy mieszadło opadnie przez określony dystans, następuje cyfrowe wskazanie liczby opadania. Wartość liczby opadania, w sekundach, stanowi pomiar aktywności α -amylazy.
- Za wynik końcowy przyjąć średnią arytmetyczną dwóch oznaczeń.



Fot. 7. Urządzenie Falling Number 1600

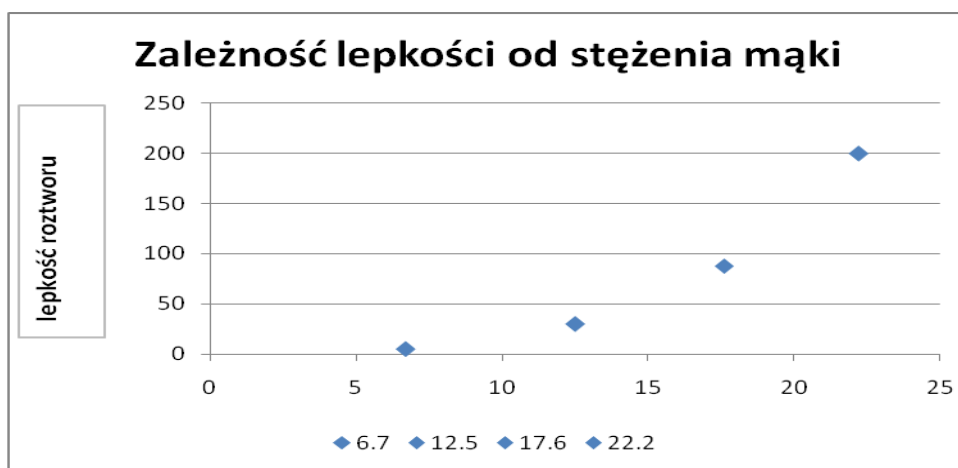
d) oznaczanie lepkości w reometrze oscylacyjnym Brookfield RV DV-II+ Pro Extra

Przygotować naważki mąki wyciągowej typ 650 (lub zbliżonej) o masie 5, 10, 15, 20 g (każda podgrupa jedną naważkę w trzech powtórzeniach) w zlewkach o pojemności 150 ml. Przygotować wodę o temp. 60, 80 i 95°C (w dużej zlewce dla wszystkich podgrup). Do zlewki z mąką dodać odpowiednio dla temp. 60°C 20 ml H₂O, a dla temp. 80°C 15 ml. Następnie uzupełnić wrzącą wodą do 100 ml. Dla próbki t. 60°C ostudzić do 60°C i dokonać pomiaru lepkości od razu po dokładnym wymieszaniu za pomocą reometru oscylacyjnego (fot. 8).



Fot. 8. Reometr oscylacyjny Brookfield

Wyniki przedstawić jako wykres (jeden na całą grupę) zmienności lepkości w funkcji stężenia mąki w mieszaninie (oddzielne wykresy dla trzech temperatur – rys. 6).



Rys. 6. Zależności lepkości kleiku od stężenia mąki

6. Analiza wyników

Uzyskane wyniki zestawić w formie 2 tabel. Wyznaczyć wartości średnie i odchylenia standardowe.

Tabela I. Wyniki analizy próbki mąki

Wyróżnik	Jednostka a	Wynik analizy							
		Próbka 1				Próbka 2			
		X ₁	X ₂	\bar{x}	\hat{s}	X ₁	X ₂	\bar{x}	\hat{s}
Zawartość skrobi	g/100 g								
Aktywność alfa-amyłazy	s								
Lepkość amylograficzna tpk tkk Lepkość maksymalna	°C °C j.B.								

X₁ -

X₂ -

Tabela II. Zestawienie wyników analiz próbek mąki

Wyróżnik	Jednostka a	Wynik analizy							
		X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈
Zawartość skrobi	g/100 g								
Aktywność alfa-amyłazy	s								
Lepkość amylograficzna tpk tkk Lepkość maksymalna	°C °C j.B.								

X₁ - X₂ -

X₃ - X₄ -, itp.

ĆWICZENIE NR 3

1. Temat ćwiczenia

Podstawowe metody analizy lipidów w surowcach i żywności pochodzenia roślinnego

2. Cel ćwiczenia

- ♦ zapoznanie z metodami analizy ilości tłuszczu (ekstrakcja i tłoczenie),
- ♦ zapoznanie z metodami charakterystyki i oceny jakości olejów roślinnych.

3. Materiał badań

- (a) nasiona rzepaku, żmijowca, wiesiołka, czarnuszki

4. Zadania do wykonania

- (a) ekstrakcja oleju z nasion,
(b) tłoczenie oleju z nasion,
(c) oznaczenie składu kwasów tłuszczowych i zawartości kwasu erukowego,
(d) oznaczanie barwy olejów,
(e) oznaczanie stopnia hydrolizy olejów,
(f) oznaczanie stopnia utlenienia olejów.

5. Sposób wykonania ćwiczenia

a) ekstrakcja

Wytłok rzepakowy z pras wstępnego tłoczenia zawiera 15 - 20 % tłuszczu, który wydobywany jest podczas ekstrakcji rozpuszczalnikiem. Powszechnie stosowane są rozpuszczalniki węglowodorowe (ropopochodne), heksan oraz benzyna ekstrakcyjna. W polskim przemyśle olejarskim powszechnie stosowanym rozpuszczalnikiem była benzyna ekstrakcyjna (obecnie, prawdopodobnie, jest to heksan. PN-56/C-96022 podaje cztery klasy benzyny ekstrakcyjnej, różniące się gęstością, zakresem temperatur wrzenia, zawartością węglowodorów aromatycznych i siarki.

Spośród wielu wymagań, jakim powinien sprostać rozpuszczalnik stosowany do żywności, wymienia się między innymi niską temperaturę oraz wąski zakres temperatur wrzenia dla poszczególnych jego frakcji. Żadna z klas krajowej benzyny nie spełnia tego wymogu, z oczywistą szkodą dla efektywności ekstrakcji,

energochłonności procesu, bezpieczeństwa pracy i środowiska oraz jakości oleju i śruty. Stosowanie rozpuszczalnika o szerokim zakresie temperatur wrzenia oznacza bowiem konieczność stosowania wysokich temperatur w procesie destylacji misceli i odbenzynowania śruty.

Wykonanie:

- ◆ zmielić nasiona w młynku laboratoryjnym,
- ◆ śrutę do ekstrakcji umieścić w gilzie ekstrakcyjnej i zabezpieczyć watą przed jej wydostaniem się,
- ◆ ekstrakcję oleju wykonać w aparacie Soxhleta stosując eter naftowy jako rozpuszczalnik,
- ◆ Olej pozbawić resztek rozpuszczalnika i zważyć

b) tłoczenie

W dwustopniowej technologii wydobywania oleju stosowane są prasy wstępного tłoczenia, natomiast w technologii zimnego tłoczenia - prasy końcowe (duoexpellery). Z reguły są to prasy ślimakowe. Efektywność tłoczenia tłuszczu w dużej mierze zależy od sposobu przygotowania materiału, tj. rozdrabniania i/lub prażenia oraz rodzaju pras.

Wykonanie:

- ◆ Wytłaczanie oleju wykonać w laboratoryjnej prasie ślimakowej typu „Komet”, dobierając dyszę stosownie do gatunku nasion,
- ◆ Olej wytłaczać z 2 próbek o masie 50-100g,
- ◆ Oczyszczyć olej poprzez odwirowanie (10 min przy 10000 obr./min.) i zdekantowanie oleju z nad osadu.

c) oznaczenie składu kwasów tłuszczowych i zawartości kwasu erukowego (Zadernowski i Sosulski, 1978)

Tłuszcze pożywienia to zarówno tłuszcze zwierzęce jak i pochodzenia roślinnego. Jako źródło energii tłuszcz w diecie powinien zaspakajać od 20 do 35% zapotrzebowania na energię i jako taki może być zastępowany innymi źródłami energii np. węglowodanami. Należy jednak pamiętać, że tłuszcz pochodzenia roślinnego stanowi źródło Niezbędnych Nienasyconych Kwasów Tłuszczowych (NNKT) oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. NNKT stanowią kwas α -linolenowy, przypisany z uwagi na położenie nienasyconych wiązań w cząsteczce do

grupy kwasów omega-3 oraz kwas linolowy należący do grupy omega-6. Organizmy ssaków nie są w stanie syntetyzować wymienionych kwasów tłuszczowych, dlatego też jedynym ich źródłem jest dieta. Konieczność dostarczenia kwasów tłuszczowych do organizmu wraz z dietą to jedno z kryteriów zaliczenia ich do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). Poza tym muszą one także pełnić ważne funkcje życiowe w organizmie. Stwierdzono, że NNKT niezbędne są do prawidłowego rozwoju młodych organizmów i utrzymania przez całe życie dobrego stanu zdrowia.

Źródłem kwasu α -linolenowego w pożywieniu są m.in.: tłoczone na zimno oleje lniany i rzepakowy, orzechy włoskie, kiełki pszenicy. Kwas linolowy można znaleźć w tłoczonych na zimno oleju sojowym i kukurydzianym, nasionach słonecznika, nasionach dyni, nasionach sezamu i w większości orzechów.

Tab. 10. Przykłady kwasów tłuszczowych

Kwasy tłuszczowe		
nasycone	jednonienasycone	wielonienasycone
masłowy	oleomirystynowy	linolowy (omega-6)
kapronowy	oleopalmitynowy	γ -linolenowy (omega-6)
kaprylowy	oleinowy	arachidonowy (omega-6)
kaprynowy	elaidynowy	α -linolenowy (omega-3)
laurynowy	wakcenyowy	dokozaheksaenowy (omega-3)
mirystynowy	gadoleinowy	eikozapentaenowy (omega-3)
palmitynowy	erukowy	
stearynowy	brasydynowy	
arachidowy		
behenowy		
lignocerowy		

Zasada metody:

Metoda polega na przeestryfikowaniu kwasów tłuszczowych oleju do estrów metylowych lotnych w warunkach analizy a następnie przeprowadzenie ich rozdzielania przy użyciu chromatografu gazowego. Otrzymane pola powierzchni pików odpowiadają ilości estrów metylowych poszczególnych kwasów tłuszczowych oleju.

Wykonanie oznaczenia:

- ◆ pobrać próbkę ok. 10 µg (2 krople),
- ◆ umieścić próbkę w ampułce i dodać 2 ml mieszaniny metylującej (metanol-chloroform-kwas siarkowy, 100:100:1, v/v/v),
- ◆ prowadzić metylację ogrzewając zatopione ampułki w suszarce w temperaturze 70 °C w czasie 2 godzin,
- ◆ otworzyć ampułki, dodać niewielkie ilości pyłu cynkowego (w celu neutralizacji kwasu siarkowego),
- ◆ pozostawić ampułki do całkowitego odparowania rozpuszczalnika,
- ◆ estry metylowe rozpuścić w heksanie bezpośrednio przed analizą chromatograficzną,
- ◆ przygotowany roztwór analizować z zastosowaniem techniki chromatografii gazowej (GC) na kolumnie DB-225 30m × 0,25mm × 0,15 µm stosując hel jako gaz nośny,
- ◆ zintegrować uzyskane chromatogramy,
- ◆ jako wynik podać udział procentowy estrów metylowych poszczególnych kwasów tłuszczowych,
- ◆ zawartość kwasu erukowego obliczyć na podstawie stosunku pola powierzchni piku wzorca i badanego estru.

d) oznaczenie barwy olejów (metodą kolorymetryczną) wg PN-A-86934:1995

Zasada metody:

Metoda polega na pomiarze absorbancji próbek olejów roślinnych po ich rozcieńczeniu, przy dwóch długościach fal w zakresie widzialnym: dla grupy barwników karotenoidowych $\lambda=442$ nm, dla grupy barwników chlorofilowych $\lambda=668$ nm. Odczytane wartości absorbancji są sumowane i wyrażane jako barwa w postaci liczby całkowitej.

Wykonanie oznaczenia:

♦ **pomiar absorbancji grupy barwników karotenoidowych:**

- do probówki szklanej odmierzyć 1 ml oleju,
- dodać 10 ml n-heksanu (rozcieńczenie próbki oleju 1:10),
- zamknąć probówkę korkiem i dokładnie wymieszać jej zawartość,
- roztwór przenieść do kuwety szklanej o długości drogi optycznej 1 cm,
- wstawić w przystawkę pomiarową prawidłowo wyzerowanego, przy długości fali $\lambda=442$ nm, spektrofotometru,
- odczytać ze skali spektrofotometru wartość absorbancji,
- wykonać w ten sam sposób drugi pomiar absorbancji badanej próbki oleju,

♦ **pomiar absorbancji grupy barwników chlorofilowych:**

- do probówki szklanej odmierzyć 3 ml oleju,
- dodać 3 ml n-heksanu (rozcieńczenie próbki oleju 1:1),
- zamknąć probówkę korkiem i dokładnie wymieszać jej zawartość,
- roztwór przenieść do kuwety szklanej o długości drogi optycznej 1 cm,
- wstawić w przystawkę pomiarową prawidłowo wyzerowanego, przy długości fali $\lambda=668$ nm, spektrofotometru,
- odczytać ze skali spektrofotometru wartość absorbancji,
- wykonać w ten sam sposób drugi pomiar absorbancji badanej próbki oleju,

♦ **przygotowanie spektrofotometru do pomiaru absorbancji:**

- **uwaga!** spektrofotometr powinien być włączony, co najmniej 15 min. przed dokonaniem właściwego pomiaru,
- w przystawce pomiarowej znajdują się dwa miejsca, z których jedno jest dla kuwety wypełnionej n-heksanem, a drugie dla kuwety z roztworem badanej próbki oleju,
- kuwetę z n-heksanem należy umieścić się w przystawce pomiarowej,
- ustawić wymaganą dla danej grupy barwników długość fali ($\lambda= 442$ nm lub 668 nm) wykonać zerowanie spektrofotometru zgodnie z instrukcjami prowadzącego,
- zerowanie aparatu powinno być wykonane przed każdym pomiarem,
- wykonując pomiary absorbancji w kolejności od stężenia najmniejszego do największego zmniejszy błąd pomiaru,

♦ **obliczenie barwy oleju wykonać wg wzoru:**

$$B = 1000 \times (A_{442} + A_{668}), \quad [-]$$

gdzie:

A_{442} – zmierzona uśredniona wartość absorbancji próbki oleju o rozcieńczeniu 1:10,
przy długości fali $\lambda=442$ nm,

A_{668} – zmierzona uśredniona wartość absorbancji próbki oleju o rozcieńczeniu 1:1,
przy długości fali $\lambda=668$ nm,

1000 – współczynnik przeliczeniowy.

Powtarzalność wyników:

Bezwzględna różnica między dwoma pojedynczymi wynikami badań, uzyskanymi z zastosowaniem tej samej metody, dla tej samej próbki, w tym samym laboratorium, przez tego samego analityka, z użyciem tego samego sprzętu, w krótkim odstępie czasu, nie powinna być większa niż:

♦ olej rzepakowy:

4 – w przypadku olejów o wartości barwy do 50,

8 – w przypadku olejów o wartości barwy 51-500,

10 – w przypadku olejów o wartości barwy powyżej 500,

♦ olej sojowy:

3 – w przypadku olejów o wartości barwy do 40,

5 – w przypadku olejów o wartości barwy 41-300,

7 – w przypadku olejów o wartości barwy powyżej 300,

♦ olej słonecznikowy:

3 – w przypadku olejów o wartości barwy do 20,

4 – w przypadku olejów o wartości barwy 21-100,

5 – w przypadku olejów o wartości barwy powyżej 100,

♦ pozostałe oleje:

10% – w przypadku olejów o wartości barwy do 50,

5% – w przypadku olejów o wartości barwy 51-300,

2% – w przypadku olejów o wartości barwy powyżej 300.

e) oznaczenie liczby kwasowej olejów wg PN-ISO 660:1998

Liczba kwasowa – liczba miligramów wodorotlenku potasu potrzebna do zneutralizowania wolnych kwasów tłuszczowych zawartych w 1 g oleju. Liczba kwasowa jest miarą zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, czyli określa stopień hydrolizy tłuszczu.

Tab. 11. Maksymalne dopuszczalne wartości liczby kwasowej w wybranych olejach

Olej	Liczba kwasowa [mg KOH/g]
olej sojowy	5 ¹⁾
olej słonecznikowy	6 ¹⁾
olej rzepakowy	4 ¹⁾
olej palmowy	12 ¹⁾
olej kokosowy	12 ¹⁾
oliwa z oliwek	6,6 (rafin. 0,6) ²⁾

1) Norma PN-A-86906/A1:1995 : Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Rafinowane oleje roślinne.

2) Norma BN-91/8052-01: Oliwy z oliwek.

Zasada metody:

Metoda polega na rozpuszczeniu próbki oleju w mieszaninie rozpuszczalników i miareczkowaniu roztworem wodorotlenku potasu.

Wykonanie oznaczenia:

- ◆ do kolby stożkowej o pojemności 250 ml pobrać 5-10 g oleju z dokładnością do 0,01 g,
- ◆ dodać 10 ml mieszaniny alkoholowo-eterowej (1:1) i wymieszać zawartość kolby,
- ◆ dodać 2-3 krople 1% roztworu fenoloftaleiny w alkoholu,
- ◆ miareczkować 0,1 N roztworem wodorotlenku potasu do momentu pojawienia się jasnoróżowego zabarwienia utrzymującego się przez 1 min.,
- ◆ odczytać ilość zużytego do miareczkowania roztworu wodorotlenku potasu,
- ◆ wykonać co najmniej dwa równoległe oznaczenia,
- ◆ liczbę kwasową (LK) obliczyć wg wzoru:

$$LK = \frac{5,611 \times a}{m} \quad [\text{mg KOH/g oleju}]$$

gdzie:

a – objętość 0,1 N roztworu wodorotlenku potasu zużyta do miareczkowania [ml],
m – masa oleju [g].

Powtarzalność wyników:

Bezwzględna różnica między dwoma pojedynczymi wynikami badań, uzyskanymi z zastosowaniem tej samej metody, dla tej samej próbki, w tym samym laboratorium, przez tego samego analityka, z użyciem tego samego sprzętu, w krótkim odstępie czasu, nie powinna być większa niż:

0,03 mg KOH/g – w przypadku olejów o liczbie kwasowej 0-1,5 mg KOH/g oleju,

0,07 mg KOH/g – w przypadku olejów o liczbie kwasowej 1,6-5,0 mg KOH/g oleju,

0,10 mg KOH/g – w przypadku olejów o liczbie kwasowej 5,1-30 mg KOH/g oleju.

f) oznaczenie liczby nadtlenkowej olejów wg PN-ISO 3960:1996

Liczba nadtlenkowa – jest to ilość mililitrów mianowanego roztworu tiosiarczanu sodu potrzebna do zmiareczkowania jodu wydzielonego z roztworu jodku potasu w wyniku działania nadtlenków zawartych w 1 kg oleju. Liczba nadtlenkowa jest miarą zawartości nadtlenków i traktowana jest jako wskaźnik stopnia utlenienia (zjełczenia) tłuszczu.

Tabela 12. Maksymalne dopuszczalne wartości liczby nadtlenkowej w wybranych olejach rafinowanych.

Olej	Liczba nadtlenkowa [mEq O ₂ /kg]
olej sojowy	5,0 ¹⁾
olej słonecznikowy	
olej rzepakowy	
olej palmowy	
olej kokosowy	
oliwa z oliwek	20,0 ²⁾

1) Norma PN-A-86908: *Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Rafinowane oleje roślinne.*

2) Norma BN-91/8052-01: *Oliwy z oliwek.*

Zasada metody:

Metoda polega na poddaniu próbki analitycznej, znajdującej się w roztworze kwasu octowego i chloroformu, działaniu roztworu jodku potasu, a następnie miareczkowaniu wydzielonego jodu mianowanym roztworem tiosiarczanu sodu.

Wykonanie oznaczenia:

- ◆ do kolby stożkowej ze szlifem o pojemności 250 ml pobrać 5-10 g oleju z dokładnością do 0,01 g,
- ◆ dodać 5 ml chloroformu i wymieszać zawartość kolby do całkowitego rozpuszczenia oleju,
- ◆ dodać 7,5 ml kwasu octowego i 0,5 ml nasyconego roztworu jodku potasu,
- ◆ szybko zamknąć kolbę korkiem i mieszać zawartość kolby przez 1 min.,
- ◆ pozostawić w ciemności na 5 min.,
- ◆ po upływie 5 min. dodać ok. 37,5 ml wody destylowanej, opłukując starannie korek,
- ◆ dodać 2-3 krople 0,5% wodnego roztworu skrobi i wymieszać (pojawi się niebiesko-szare zabarwienie),
- ◆ miareczkować 0,002 N roztworem tiosiarczanu sodu do odbarwienia zawartości kolby,
- ◆ odczytać ilość zużytego do miareczkowania roztworu tiosiarczanu sodu,
- ◆ wykonać co najmniej dwa równoległe oznaczenia,
- ◆ wykonać także próbę ślepa, postępując w sposób opisany powyżej, ale nie pobierając do kolby oleju,
- ◆ liczbę nadtlenkową (LOO) obliczyć wg wzoru:

$$LOO = \frac{(V_1 - V_0) \times 0,002}{m} \times 1000 \quad [\text{mEq O}_2/\text{kg oleju}]$$

gdzie:

V_1 – objętość 0,002 N roztworu tiosiarczanu sodu zużyta do miareczkowania próbki oleju [ml],

V_0 – objętość 0,002 N roztworu tiosiarczanu sodu zużyta do miareczkowania próby ślepej [ml],

m – masa oleju [g].

Powtarzalność wyników:

Bezwzględna różnica między dwoma pojedynczymi wynikami badań, uzyskanymi z zastosowaniem tej samej metody, dla tej samej próbki, w tym samym laboratorium, przez tego samego analityka, z użyciem tego samego sprzętu, w krótkim odstępie czasu, nie powinna być większa niż:

0,1 mEq O₂/kg – w przypadku olejów o liczbie nadtlenkowej poniżej 1 mEq O₂/kg oleju,

0,2 mEq O₂/kg – w przypadku olejów o liczbie nadtlenkowej 1-6 mEq O₂/kg oleju,

0,5 mEq O₂/kg – w przypadku olejów o liczbie nadtlenkowej 6-12 mEq O₂/kg oleju,

1 mEq O₂/kg – w przypadku olejów o liczbie nadtlenkowej powyżej 12 mEq O₂/kg oleju.

6. Analiza wyników

Wyniki wszystkich pomiarów zestawić w formie tabeli i na jej podstawie ocenić wpływ sposobu wydobywania oleju na jego cechy jakościowe.

Tabela I. Wyniki analizy olejów z próbki nasion

Wyróżnik	Jednos- tka	Olej ekstrahowany				Olej tłoczony			
		X ₁	X ₂	\bar{x}	\hat{s}	X ₁	X ₂	\bar{x}	\hat{s}
Ilość otrzymanego oleju	g/100g								
Liczba kwasowa	mg KOH/g								
Liczba nadtlenkowa	mEq O ₂ /kg								
Barwa ogółem	-								
- A ₄₄₂	-								
- A ₆₆₈	-								
Kwasy tłuszczowe: • palmitynowy(C _{16:0}) • palmitooleinowy(C _{16:1}) • stearynowy(C _{18:0}) • oleinowy (C _{18:1}) • linolowy (C _{18:2}) • α-linolenowy (C _{18:3} n-3) • stearydonowy (C _{18:4}) • γ-linolenowy (C _{18:3} n-6) • erukowy (C _{22:1})	%								

ĆWICZENIE NR 4

1. Temat ćwiczenia

Aspekty metodyczne związane z ekstraktywnością związków oraz technikami ich separacji

2. Cel ćwiczenia

- ◆ Ocena wpływu warunków ekstrakcji na wydajność i selektywność procesu,
- ◆ zapoznanie z wybranymi technikami chromatograficznymi stosowanymi w analizie żywności.

3. Materiał badań

- (a) owoce porzeczki czarnej,
- (b) liście pietruszki lub szpinaku.

4. Zadania do wykonania

- (a) ekstrakcja związków fenolowych badanych owoców,
- (b) oznaczenie ogólnej zawartości polifenoli w uzyskanych ekstraktach,
- (c) ekstrakcja barwników warzyw liściowych,
- (d) chromatograficzny rozdział barwników roślinnych.

5. Sposób wykonania ćwiczenia

a) ekstrakcja związków fenolowych

Wykonanie zadania:

- ◆ do probówki wirowniczej odważyć, z dokładnością do 0,01 g, 2 g uprzednio rozdrobnionych owoców,
- ◆ związki fenolowe ekstrahować trzykrotnie homogenizując każdorazowo z 10 ml rozpuszczalnika, używając według zaleceń prowadzącego:
 - a) heksan
 - b) woda
 - c) metanol 40%
 - d) metanol 80%
- ◆ ekstrakty odwirować, zdekantować i połączyć w kolbie miarowej o pojemności 50ml,

b) oznaczenie ogólnej zawartości polifenoli (AOAC, 1974)

Zasada metody:

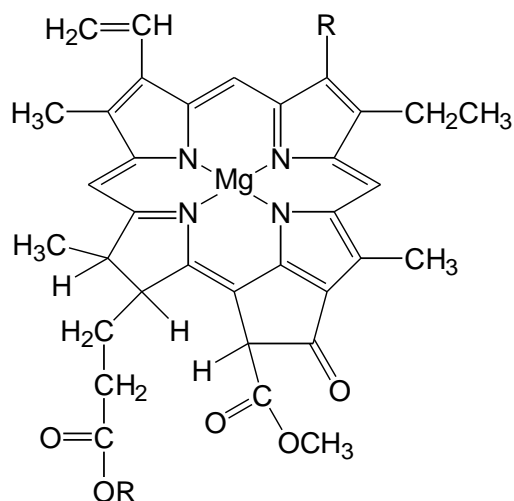
Metoda polega na oznaczeniu zawartości związków polifenolowych, przez pomiar absorbancji mieszaniny poreakcyjnej w której odczynnik Folina – Ciocalteau reaguje ze związkami polifenolowymi w środowisku roztworu węglanu sodowego

Wykonanie oznaczenia:

- ◆ w probówce wirowniczej umieścić 250 µl badanej próbki, 250 µl odczynnika Folin-Ciocalteau, 500 µl węglanu sodowego i 4000 µl wody destylowanej (ilość wody zależy od ilości pobranej próby),
- ◆ równolegle przygotować próbę odczynnikową w której zamiast roztworu badanego dodać wodę destylowaną,
- ◆ próbki zamknąć korkiem, zamieszać i odstawić na 25 minut w ciemne miejsce,
- ◆ wirować próby w czasie 5 minut przy 7000 obr./min.,
- ◆ wykonać pomiar absorbancji przy długości fali 720 nm wobec próby odczynnikowej,
- ◆ zawartość polifenoli w roztworze odczytać z krzywej wzorcowej. Wynik podać w mg związków fenolowych w 100 g świeżej masy próby.

c) ekstrakcja barwników

Chlorofile (rys. 7) – związki chemiczne nadające roślinom zieloną barwę. Rozpuszczalne w alkoholu, mają zastosowanie do barwienia np. produktów kosmetycznych. Posiadają właściwości dezynfekcyjne, przyspieszają regenerację naskórka i gojenie drobnych podrażnień skóry. Wykorzystywane w kosmetykach do pielęgnacji cery przethuszczającej się, szarej i zmęczonej. Mogą poprawiać ukrwienie skóry, a więc wpływać na lepsze jej dotlenienie i odżywienie. Mają budowę zbliżoną do hemoglobiny.



Rys. 7. Budowa chlorofilu

Chlorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) – ciemnoniebieski, alkoholowy roztwór ma barwę niebieskozieloną.

Chlorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) – ciemnozielony, alkoholowy roztwór ma barwę żółtozieloną.

Karotenyl – pomarańczowe barwniki wielu roślin np. marchwi, papryki, owoców rokitnika. Są dobrze rozpuszczalne w tłuszczach i olejach, nie rozpuszczają się w wodzie. Stosowane są do barwienia preparatów tłuszczowych na kolor od żółtego do pomarańczowego, głównie do barwienia kremów i olejków z witaminą A.

Chromatografia - jest fizykochemiczną metodą rozdzielania składników mieszaniny. Techniki chromatograficzne oparte są na wykorzystaniu różnic prędkości migracji rozdzielanych składników względem dwóch faz:

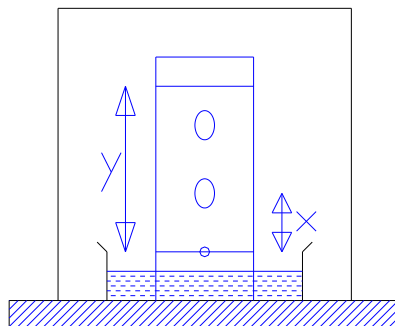
- fazy stacjonarnej - nieruchoma warstwa substancji o rozwiniętej powierzchni
- fazy ruchomej zwanej eluentem - przepływający przez fazę stacjonarną strumień gazu lub cieczy.

Szybkość migracji substancji na chromatogramie zależy przede wszystkim od stosunku podziału pomiędzy obie fazy determinowanego między innymi różnym powinowactwem rozdzielanych składników do fazy stacjonarnej i ruchomej.

Do charakterystyki substancji używa się wartości współczynnika retencji R_f

$$R_f = \frac{\text{Szybkość przesuwania się czoła pasma}}{\text{Szybkość przesuwania się czoła rozpuszczalnika}}$$

Wartość R_f określa się praktycznie jako stosunek odległości x (równej przesunięciu się środka plamki od miejsca startu) do odległości y (równej przesunięciu się czoła rozpuszczalnika).



$$R_f = x/y$$

Rys. 8. Określanie wartości współczynnika retencji R_f

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) - faza stacjonarna (sorbent) naniesiony jest cienką warstwą na płaską płytkę (szklaną, plastikową lub aluminiową). Fazę ruchomą (eluent, układ rozwijający) stanowi mieszanina rozpuszczalników. Do rozwijania chromatogramu służy komora chromatograficzna. Substancje rozpuszczone migrują przez fazę stacjonarną z szybkościami zdeterminowanymi ich stosunkami podziału. Substancje o największym stosunku podziału poruszają się jako ostatnie (jeśli w ogóle), natomiast substancje o najmniejszych stosunkach podziału poruszają się razem z czołem rozpuszczalnika.

Wykonanie zadania:

- ◆ w moździerzu umieścić 1g, odważonych z dokładnością do 0,01 g, liści szpinaku lub pietruszki,
- ◆ materiał rozdrobnić, dodać 5 ml mieszaniny aceton:heksan (1:1; v:v),
- ◆ ucierać mieszaninę w czasie 5 minut,
- ◆ ekstrakt przenieść do probówki wirowniczej i odwirować,
- ◆ ekstrakt rozdzieli się na dwie fazy, górna z nich posłuży jako źródło barwników do rozdziału chromatograficznego.

d) chromatograficzny rozdział barwników roślinnych**Wykonanie zadania:**

1. sporządzić 4 roztwory do chromatografii odmierzając odpowiednie ilości składników według poniższej tabeli:

Eluent	Heksan	Alkohol etylowy	Benzen
1	8	0,1	3
2	8	0,9	3
3	8	3	3
4	4	4	4

2. do komór chromatograficznych wlać eluenty w ilości do około 0,4 cm wysokości od dna, komory zamknąć,
3. na 4 płytkach chromatograficznych DELIKATNIE zaznaczyć OŁÓWKIEM linię startu (około 0,8 cm od brzegu płytki).
4. na każdą płytkę nanieść za pomocą kapilary ekstrakt barwników (średnica plam nie powinna być większa niż 0,3 cm),
5. płytki wstawić do uprzednio przygotowanych komór chromatograficznych w taki sposób aby poziom rozpuszczalnika nie sięgał plam naniesionego ekstraktu,
6. rozwijanie chromatogramu zakończyć, gdy czoło rozpuszczalnika znajdzie się w odległości około 0,5 cm od górnej krawędzi płytki,
7. Wyciągnąć płytkę, zaznaczyć ołówkiem linię mety i wysuszyć,
8. Zmierzyć odległości od startu do czoła rozpuszczalnika oraz od startu do środka poszczególnych plam,
9. Obliczyć współczynniki R_f .

6. Analiza wyników

1. Wyniki zawartości związków fenolowych zestawić w tabeli,
2. Określić wpływ zastosowanej mieszaniny ekstrahującej na wyciąg polifenoli z badanego materiału, która mieszanina jest najbardziej odpowiednia do ekstrakcji związków fenolowych z materiału roślinnego i dlaczego?
3. Odwzorować płytki
4. Wyniki rozdziału chromatograficznego wpisać do tabeli I.

Tabela I. Wyniki rozdzału chromatograficznego

Nr plamy	Współczynniki retencji				Kolor barwnika
	Eluent				
	1	2	3	4	

5. Który eluent jest najbardziej odpowiedni do rozdzału i dlaczego?

ĆWICZENIE NR 5

1. Temat ćwiczenia

Pomiar barwy surowców i produktów pochodzenia roślinnego techniką cyfrowej analizy obrazu

2. Cel ćwiczenia

Zapoznanie z metodą pomiaru barwy surowców i produktów pochodzenia roślinnego przy użyciu zestawu cyfrowej analizy obrazu oraz spektrofotometru:

- c. zapoznanie z podstawowymi elementami zestawu cyfrowej analizy obrazu,
- d. zapoznanie z procedurą postępowania przy pomiarze barwy powierzchni i przekrojów obiektów,
- e. zapoznanie z procedurą postępowania przy pomiarze barwy oleju oraz ekstraktów barwników za pomocą spektrofotometru,
- f. analiza czynników wpływających na wyniki pomiaru barwy.

CZEŚĆ I – pomiar barwy przy użyciu zestawu cyfrowej analizy obrazu

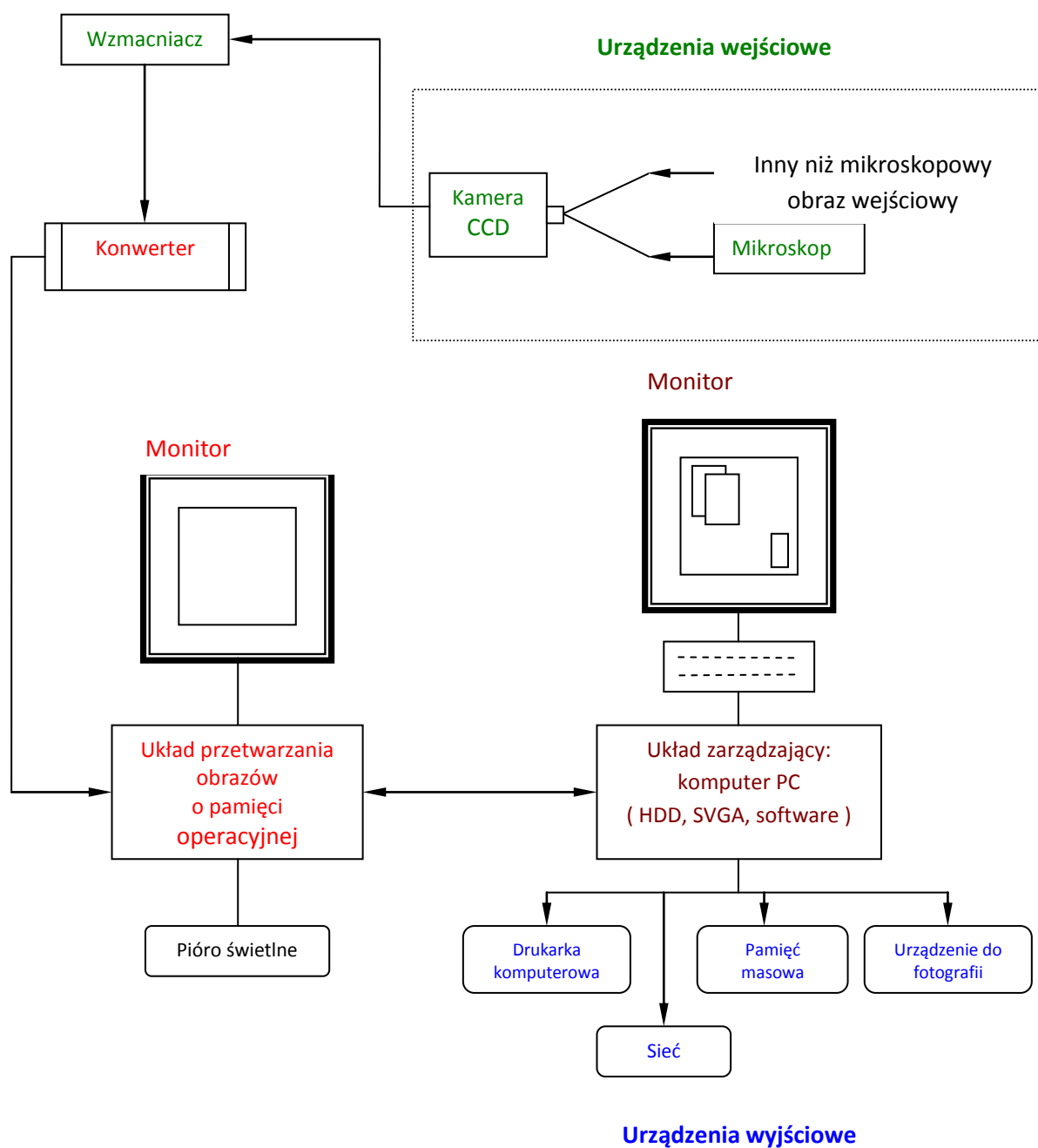
ZESTAW CYFROWEJ ANALIZY OBRAZU

Zestaw cyfrowej analizy obrazu (fot. 9, rys. 9) składa się z:

- kamery cyfrowej Nikon DXM 1200, o rozdzielczości 1280 x 1024 pikseli (1,4 mln pikseli),
- oświetlenia KAISER RB HF składającego się z 4 lamp fluorescencyjnych 36 W o temperaturze barwowej około 5400° K,
- komputera z kartą akwizycji obrazu przeznaczoną do Digital Camera DXM 1200,
- oprogramowania LUCIA G wersja 4.80 działającego w środowisku Windows, umożliwiającego rejestrację, obróbkę i edycję obrazu kolorowego oraz wykonanie pomiarów cech geometrycznych i barwy analizowanych obiektów,
- monitora oraz drukarki.



Fot. 9. Stanowisko pomiarowe cyfrowej analizy obrazu (DIA)



Rys. 9. Schemat komputerowego (cyfrowego) systemu analizy obrazu

Urządzenie wejściowe (kamery CCD o wysokiej rozdzielczości i precyzji odtwarzania geometrii przestrzennej analizowanego obrazu; używane są zarówno kamery czarno-białe, jak i kolorowe (dobór kamery zależny jest od posiadanej karty analizy obrazu i potrzeb); kamera może być sprzężona z mikroskopem w zależności od skali badań (mikro, makro); urządzenie wejściowe może stanowić również skaner - w przypadku analizy zdjęć),

Wzmacniacz sygnału (współczesne kamery CCD posiadają wzmacniacz zintegrowany z układem optycznym).

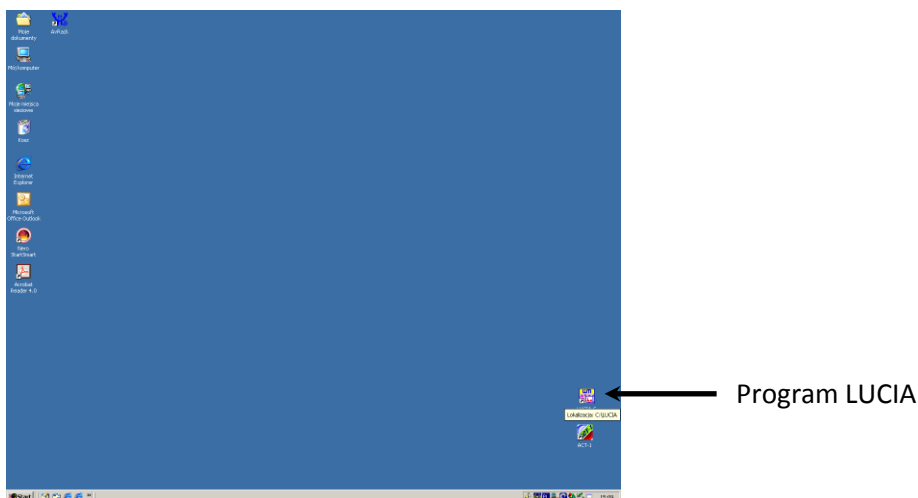
Jednostka komputerowa składająca się z dwóch części:

- 1) **karty analizy obrazu z monitorem graficznym** (karta umożliwia przetworzenie informacji otrzymanej z kamery CCD na postać cyfrową i wyświetleniu jej na monitorze),
- 2) **jednostki centralnej** (komputera klasy PC z monitorem tekstowym i pakietem oprogramowania - stanowi ona układ zarządzający pracą całego systemu),

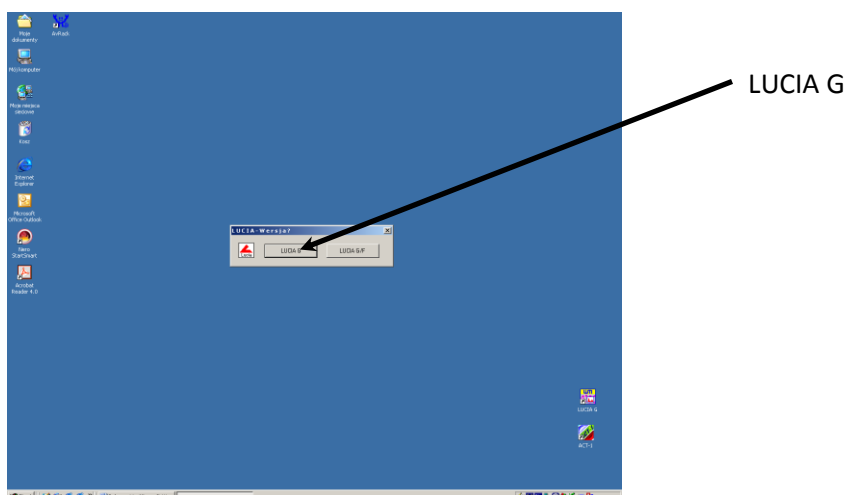
Urządzenia wyjściowe (np. drukarka, ploter, pamięć dyskowa i taśmowa, urządzenia do fotografii itp.: urządzenia te służą do zapamiętania i zobrazowania uzyskanych informacji).

PROCEDURA POSTĘPOWANIA PRZY POMIARZE BARWY OBIEKTÓW ZA POMOCĄ CYFROWEJ ANALIZY OBRAZU

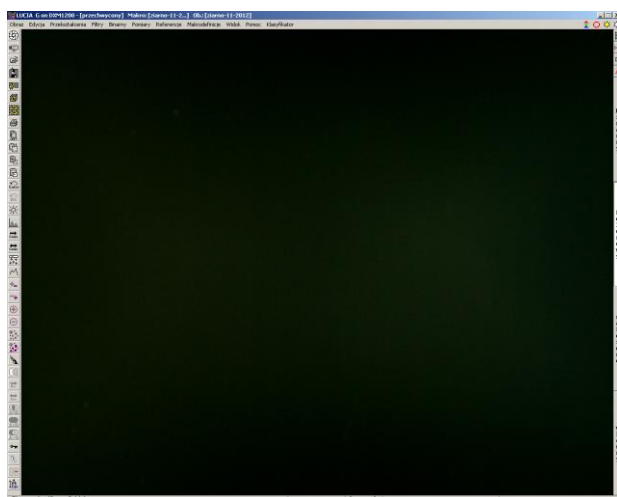
1. Uruchom program LUCIA.



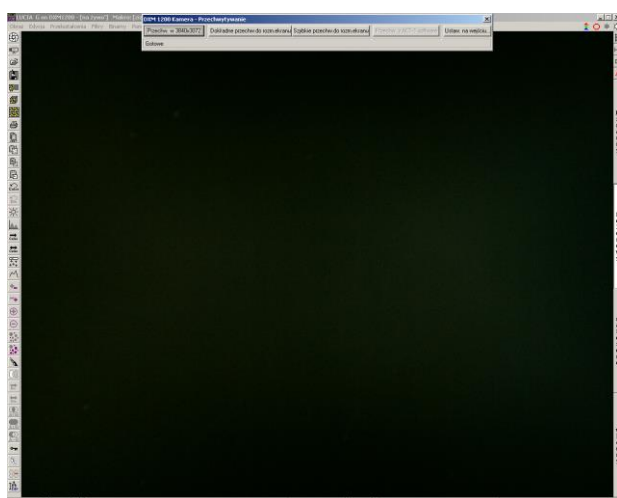
2. Wybierz wersję programu – LUCIA G.



3. Otwarty program LUCIA G.



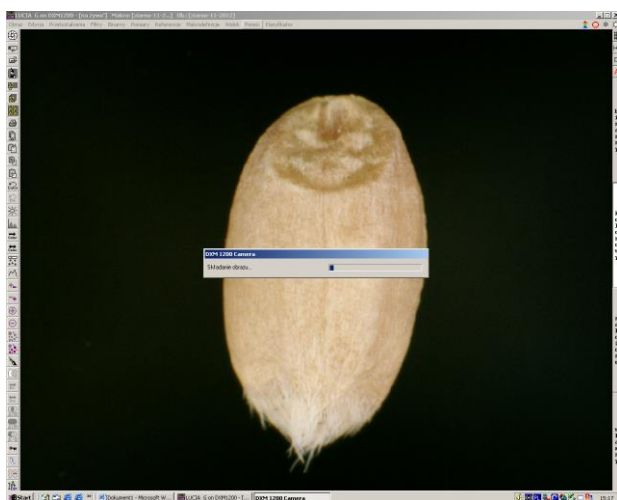
4. Przejdź do stanu „obraz żywy” wciskając na klawiaturze klawisz F9.



5. Ułóż pod kamerą ziarniak (obiekt badań) „bruzdką do dołu”.



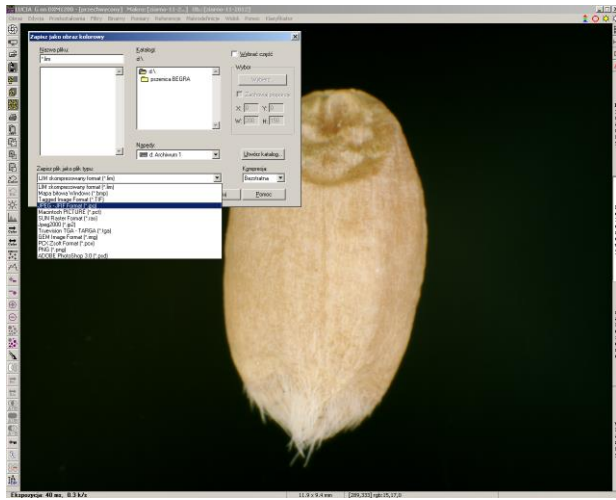
6. Zapisz obraz ziarniaka w tymczasowej pamięci komputera wybierając z aktywnego paska programu „dokładne przechwytywanie” (podczas tej czynności nie należy zmieniać położenia obiektu pod kamerą oraz wprowadzać dodatkowego źródła światła, np. poprzez otwarcie drzwi).



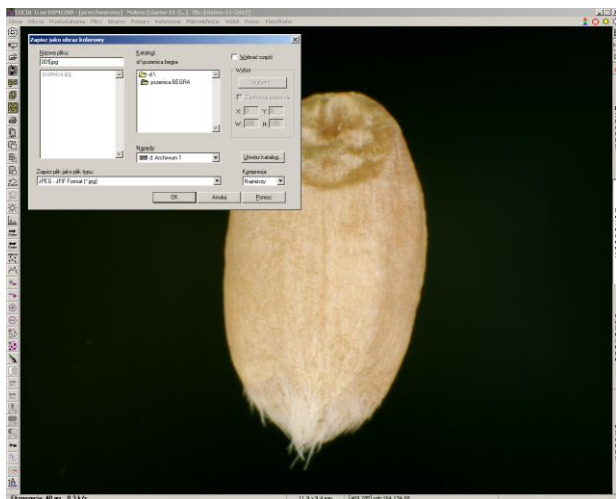
7. Zapisany („zamrożony”) obraz ziarniaka.



8. Zapisz obraz ziarniaka w utworzonym przez siebie folderze poprzez wciśnięcie na klawiaturze klawisza F12, a następnie zamień format obrazu z proponowanego przez komputer „LIM” (format o dużej dokładności, ale dużym rozmiarze) na JPEG (format skompresowany, o małym rozmiarze).



9. Znajdź swój folder i zapisz obraz za pomocą cyfr pozostawiając rozszerzenie formatu obrazu, np. 001.jpeg



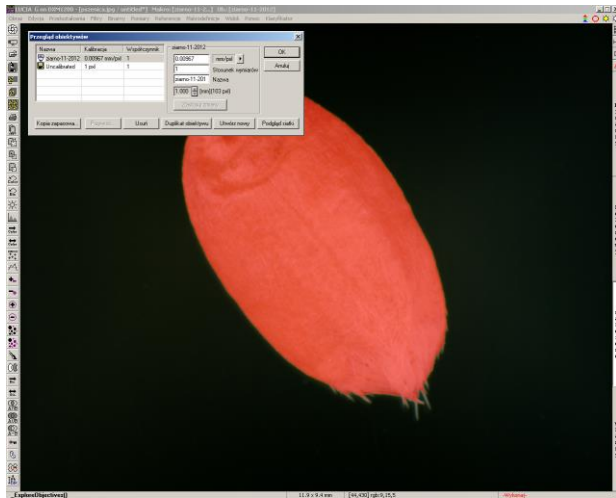
10. Rozpocznij obróbkę obrazu w celu wyznaczenia składowych modeli barw, otwórz zapisany obraz ziarniaka.



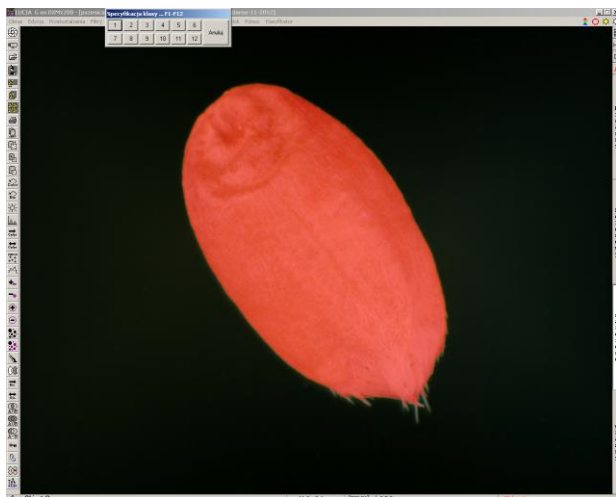
11. Nałóż nakładkę, która określi miejsce obiektu na ekranie, wciskając na klawiaturze klawisz F4. Na ekranie pojawi się panel służący do ewentualnych poprawek w dokładnym wyznaczeniu obiektu (pozwala dorysować nakładkę na obiekcie, lub ją usunąć w przypadku zanieczyszczeń w tle).



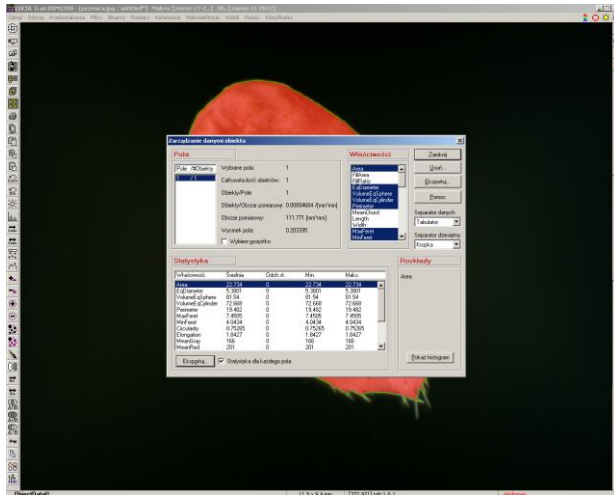
12. Jeśli obiekt jest dokładnie pokryty nakładką, wciśnij na klawiaturze klawisz „enter”. Pojawi się skala, za pomocą której możliwe jest zmierzenie wymiarów ziarniaka. Jeśli jest prawidłowa, należy wcisnąć „OK.” lub na klawiaturze klawisz „enter”.



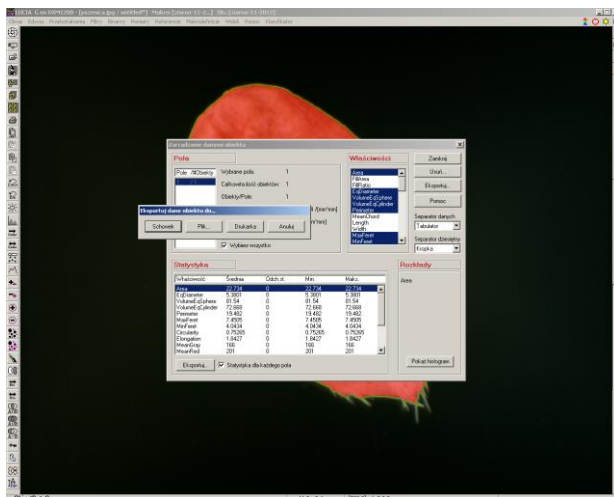
13. W celu potwierdzenia skanowania obiektu wciśnij „1” lub na klawiaturze klawisz „enter”.



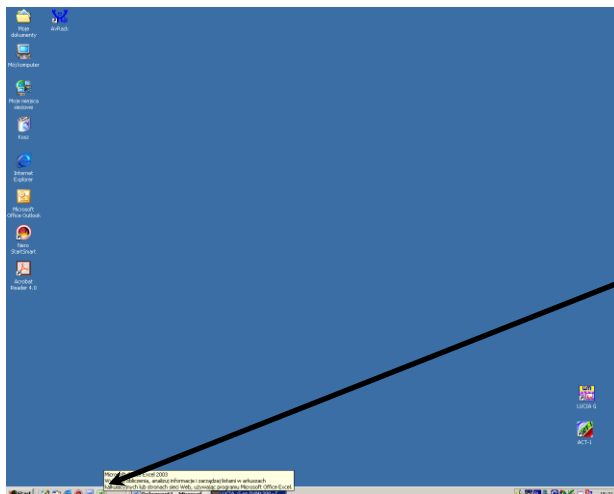
14. Pojawią się wyznaczone przez program dane obiektu, które można zapisać w arkuszu programu MS Excel.



15. Aby przenieść dane do Excela należy zaznaczyć „wybierz wszystko”, a następnie zaznaczyć „eksportuj” oraz „schowek”, w dalszej kolejności zamknąć aktywne okno i zminimalizować program LUCIA G.

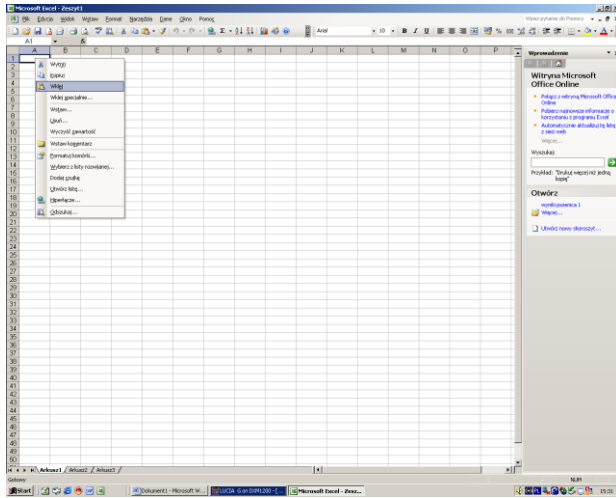


16. Otwórz program Ms Excel.

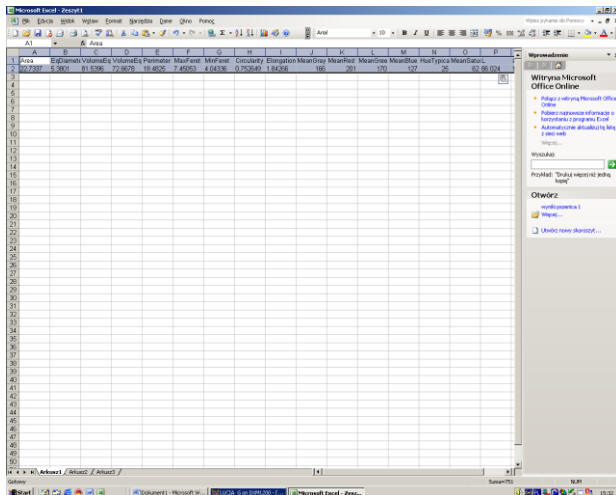


MS EXCEL

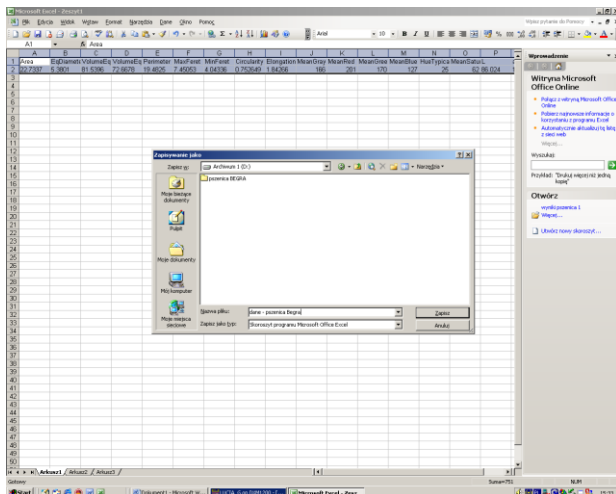
15. Ustaw kursor w polu A1 i wklej zapamiętane w schowku dane badanego ziarniaka.



16. Arkusz z wynikami pomiarów badanego ziarniaka.



17. Zapisz arkusz w swoim folderze. Zapisane dane są gotowe do analizy statystycznej.



PODSTAWOWA CHARAKTERYSTYKA MODELI BARW [PASTUSZAK, 2000]

model RGB – składowe wyrażane w 256 poziomach jasności (0-255), w którym:

R – barwa czerwona (z ang. *Red*),

G – barwa zielona (z ang. *Green*),

B – barwa niebieska (z ang. *Blue*);

model HSI, w którym:

H – odcień (ton) barwy (z ang. *Hue*), przyjmuje wartości z zakresu 0-360°,

S – nasycenie (z ang. *Saturation*), przyjmuje wartości z zakresu 0-100%,

I – intensywność barwy (z ang. *Intensity*), przyjmuje wartości z zakresu 0-100%;

modelu CIE L*a*b*, w którym:

L* – jasność barwy (z ang. *Lightness*), L*=0% – ciało idealnie czarne,

L*=100% - ciało idealnie białe, przyjmuje wartości z zakresu 0-100%,

a* – barwa: zielona (ujemne wartości a*), czerwona (dodatnie wartości a*),
przyjmuje wartości z zakresu od -120 do +120,

b* – barwa: niebieska (ujemne wartości b*), żółta (dodatnie wartości b*),
przyjmuje wartości z zakresu od -120 do +120;

jeśli a*=0 oraz b*=0, niezależnie od L* – barwa szara.

W modelu CIE L*a*b* różnicę pomiędzy barwami dwóch obiektów można określić w sposób precyzyjny posługując się wartością ΔE (całkowita różnica barw), którą można obliczyć na podstawie poniższego wzoru [PASTUSZAK, 2000]:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

ΔL^* - różnica pomiędzy składowymi L* wyznaczonymi dla próbek ($L^*_1 - L^*_2$),

Δa^* - różnica pomiędzy składowymi a* wyznaczonymi dla próbek ($a^*_1 - a^*_2$),

Δb^* - różnica pomiędzy składowymi b* wyznaczonymi dla próbek ($b^*_1 - b^*_2$).

Przyjmuje się następujące różnice barw [PASTUSZAK, 2000]:

- ✓ $\Delta E \in (0,0 - 1,0)$ – różnica niezauważalna,
- ✓ $\Delta E \in (1,0 - 2,0)$ – różnica nieistotna,
- ✓ $\Delta E \in (2,0 - 3,5)$ – różnica niewielka,
- ✓ $\Delta E \in (3,5 - 5,0)$ – różnica duża,
- ✓ $\Delta E \in (5,0 - 7,5)$ – różnica bardzo duża.

3. Materiał badań

nasiona różnych gatunków roślin uprawnych.

4. Zadania do wykonania

- (a) manualne wydzielenie z otrzymanej próbki nasion/ziaren 2 frakcji:
 - D) nasiona/ziarna duże (20 + 20 sztuk),
 - M) nasiona/ziarna małe (20 sztuk),
- (b) wykonanie przekrojów poprzecznych (P) nasion/ziaren dużych (20 sztuk),
- (c) pomiar barwy powierzchni nasion/ziaren 2 frakcji (D i M) zgodnie z opisaną wcześniej procedurą,
- (d) pomiar barwy przekrojów nasion/ziaren (P) zgodnie z opisaną wcześniej procedurą,
- (e) analiza wyników.

Analiza barwy nasion/ziarna za pomocą cyfrowej analizy obrazu – analiza wyników

1. Wyznaczyć składowe modeli barw RGB, HSI, CIEL*a*b* (składową I należy obliczyć ze wzoru $I=(R+G+B)/3$, następnie składowe S i I zamienić na wartości wyrażone w %, tj. każdą wartość składowej podzielić przez 256 i pomnożyć przez 100).
2. Wyznaczyć dla poszczególnych składowych: wartość minimalną i maksymalną, wartość średnią, odchylenie standardowe, współczynnik zmienności, medianę i modę.
3. Sporządzić wykresy składowych barwy uwzględniając wartości średnie i odchylenia standardowe (na jednym wykresie składowa barwy powierzchni nasion/ziaren dużych i małych oraz składowa barwy przekroju).
4. Sporządzić histogramy dla składowych wybranego modelu barwy (na jednym wykresie składowa barwy powierzchni nasion/ziaren dużych i małych oraz składowa barwy przekroju).
5. Wyznaczyć całkowitą różnicę (ΔE) pomiędzy barwami powierzchni badanych gatunków nasion/ziaren (dużych). Do tabeli wpisywać obliczoną wartość ΔE w odpowiednią komórkę, na przecięciu wiersza i kolumny gatunków, dla których ją wyznaczono. Wyznaczyć ΔE dla wszystkich par gatunków.
6. Zestawić wyniki w tabelach (wzory tabel 1-4 podano poniżej).
7. Napisać wnioski na podstawie wyników zawartych w tabelach:
 - a) porównać barwę powierzchni nasion/ziaren małych i dużych (patrz tabela 1),

- b) wskazać, które nasiona/ziarna duże czy małe cechuje większa jednorodność pod względem barwy powierzchni (patrz tabela 1),
 - c) porównać barwę powierzchni nasion/ziaren dużych z barwą przekrojów (patrz tabela I i II),
 - d) porównać barwę powierzchni nasion/ziaren wszystkich badanych gatunków (patrz tabela III),
 - e) czy możliwe jest zastosowanie cyfrowej analizy obrazu do odróżniania różnych gatunków nasion/ziaren na podstawie barwy powierzchni, tj. okrywy owocowo-nasiennej (patrz tabela IV), dlaczego?
8. Przedstawić fotografie wybranych nasion/ziaren spośród badanych (wszystkie 3 powinny być umieszczone na jednej stronie).

Tabela I. Wyniki analizy barwy powierzchni próbki nasion/ziaren

SKŁADOWA	Jednostka	min.	max.	mediana	moda	\bar{x}	\hat{s}	C.V.
Nasiona/ziarna duże								
Model RGB								
R	-							
G	-							
B	-							
Model HSI								
H	°							
S	%							
I	%							
Model CIEL*a*b*								
L*	%							
a*	-							
b*	-							
Nasiona/ziarna małe								
Model RGB								
R	-							
G	-							
B	-							
Model HSI								
H	°							
S	%							
I	%							
Model CIEL*a*b*								
L*	%							
a*	-							
b*	-							

Tabela II. Wyniki analizy barwy przekroju próbki nasion/ziaren

SKŁADOWA	Jednostka	min.	max.	mediana	moda	\bar{x}	\hat{s}	C.V.
Model RGB								
R	-							
G	-							
B	-							
Model HSI								
H	°							
S	%							
I	%							
Model CIEL*a*b*								
L*	%							
a*	-							
b*	-							

Tabela III. Zbiorcza zestawienie wyników analiz próbek nasion/ziaren

SKŁADOWA	Jednostka	Próbka 1		Próbka 2		Próbka 3		Próbka 4	
		\bar{x}	\hat{s}	\bar{x}	\hat{s}	\bar{x}	\hat{s}	\bar{x}	\hat{s}
BARWA POWIERZCHNI*									
Model RGB									
R	-								
G	-								
B	-								
Model HSI									
H	°								
S	%								
I	%								
Model CIEL*a*b*									
L*	%								
a*	-								
b*	-								
BARWA PRZEKROJU									
Model RGB									
R	-								
G	-								
B	-								
Model HSI									
H	°								
S	%								
I	%								
Model CIEL*a*b*									
L*	%								
a*	-								
b*	-								

*nasiona/ziarna duże

Próbka 1 -, Próbka 2 -, Próbka 3 -, Próbka 4 -

Tabela IV. Całkowita różnica barw ΔE próbek nasion/ziaren dużych

	Próbka 1	Próbka 2	Próbka 3	Próbka 4
Próbka 1	-			
Próbka 2		-		
Próbka 3			-	
Próbka 4				-

Próbka 1 -, Próbka 2 -, Próbka 3 -, Próbka 4 -

CZĘŚĆ II – pomiar barwy przy użyciu spektrofotometru

3. Materiał badań

- a) ziarno pszenicy 1 odmiany,
- b) kapusta czerwona,
- c) burak czerwony,
- d) olej oliwkowy tłoczony na zimno,
- e) olej rzepakowy tłoczony na zimno.

SZKŁO:

- a) po 8 probówek szklanych,
- b) po 6 zlewek o pojemności 25 ml,
- c) po 2 zlewki o pojemności 400 ml,
- d) po 1 szalce Petriego.

ODCZYNNIKI:

- a) 6 M HCl,
- b) 2 lub 4M NaOH,
- c) kwas octowy o stężeniu >80%,
- d) heksan.

Pipety automatyczne z końcówkami o pojemności 1 i 5 ml.

Probówki wirownicze o pojemności 2 ml.

Spekol 1 l i kuwety.

Kuwety szklane do spektrofotometru Unicam UV/Vis UV2.

Paski wskaźnikowe do mierzenia pH w zakresie 0-14.

2 skalpele i 2 pęsety i papier ścierny.

4 deski i 4 noże.

4 kuchenki elektryczne.

Sitka.

4. Zadania do wykonania

- (a) zbadanie wpływu pH na barwę produktów spożywczych,
- (b) zbadanie wpływu obróbki termicznej na barwę produktów spożywczych.

5. Sposób wykonania ćwiczenia

(a) zbadanie wpływu pH na barwę produktów spożywczych

Materiał badań:

- burak czerwony,
- kapusta czerwona.

Przygotowanie ekstraktów:

1. Pokroić 50 g liści czerwonej kapusty na drobne fragmenty (około 1 cm szerokości), umieścić w zlewce na 400 ml i zalać 100 ml wody destylowanej (liście kapusty powinny być całkowicie zanurzone w wodzie), i gotować na kuchence elektrycznej około 10 minut. Po 10 minutach gotowania zlać ekstrakt (wywar) do czystej zlewki i ostudzić do temperatury pokojowej.
2. Pokroić 50 g buraka w drobną kostkę (bok sześcianu około 0,5 cm), umieścić w zlewce na 400 ml, zalać 100 ml wody destylowanej destylowanej (buraki powinny być całkowicie zanurzone w wodzie) i gotować około 10 minut. Po 10 minutach gotowania zlać ekstrakt (wywar) do czystej zlewki i ostudzić do temperatury pokojowej.

Wykonanie oznaczenia:

1. Do pięciu probówek przenieś po 5 ml ekstraktu z kapusty/buraka, a do szóstej probówki przenieś 7 ml ekstraktu (próbka kontrolna). Do pierwszych pięciu probówek z ekstraktami dodaj po 2 ml kolejno:
 - a) wody destylowanej,
 - b) wody wodociągowej (kranowej),
 - c) kwasu solnego (6 M),
 - d) kwasu octowego (>80%),
 - e) wodorotlenku sodu (2 lub 4 M).
2. Zmierz pH otrzymanych roztworów za pomocą papierka wskaźnikowego.
3. Porównaj roztwory we wszystkich probówkach i opisz zaobserwowane zmiany barwy.
4. Wykreśl widma absorpcji otrzymanych roztworów używając wody destylowanej jako próbki odczynnikowej. Do tego celu użyj spektrofotometru UV/Vis UV2

(firma UNICAM). Oznaczenie wykonaj przy obecności prowadzącego ćwiczenia. W przypadku pojawienia się zmętnień roztwory należy odwirować w probówkach Eppendorf o pojemności 2 ml.

5. Wyniki zestaw w postaci tabeli.

Rodzaj próbki	pH (-)	Opis barwy	Maksimum absorpcji	
			długości fali (nm)	wartość (-)
Ekstrakt z kapusty czerwonej				
Ekstrakt (kontrolna)				
Ekstrakt z wodą destylowaną				
Ekstrakt z wodą wodociagową				
Ekstrakt z kwasem solnym				
Ekstrakt z kwasem octowym				
Ekstrakt z wodorotlenkiem sodu				
Ekstrakt z buraka czerwonego				
Ekstrakt (kontrolna)				
Ekstrakt z wodą destylowaną				
Ekstrakt z wodą wodociagową				
Ekstrakt z kwasem solnym				
Ekstrakt z kwasem octowym				
Ekstrakt z wodorotlenkiem sodu				

6. Wyjaśnij zaobserwowane zmiany barwy pod wpływem pH.

(b) zbadanie wpływu obróbki termicznej na barwę produktów spożywczych

Materiał badań:

- olej oliwkowy tłoczony na zimno,
- olej rzepakowy tłoczony na zimno.

Przygotowanie próbek:

1. Do sześciu zlewek o pojemności 25 ml odmierzyć po 5 ml oleju.
2. Olej w pierwszej zlewce potraktować jako próbkę kontrolną, natomiast oleje w pięciu pozostałych zlewkach poddać następującym obróbkom:
 - a) krótkotrwałe mikrofalowanie – wstawić zlewka do mikrofalówki, ustawić moc na 900 W i ogrzewać olej przez 1 min,
 - b) długotrwałe mikrofalowanie – wstawić zlewka do mikrofalówki, ustawić moc na 900 W i ogrzewać olej przez 5 min,
 - c) krótkotrwałe suszenie – wstawić zlewka do suszarki nagrzanej do temperatury 100°C i ogrzewać olej przez 10 min,
 - d) długotrwałe suszenie – wstawić zlewka do suszarki nagrzanej do temperatury 100°C i ogrzewać olej przez 60 min,
 - e) smażenie – ustawić zlewka na płycie kuchenki elektrycznej i ogrzewać olej przez 10 min.
3. Porównaj oleje we wszystkich zlewkach i opisz zaobserwowane zmiany barwy.
4. Zmierz zdolność absorpcji barwników zawartych w próbkach olejów. W tym celu przygotuj roztwory oleju w heksanie:
 - a) w przypadku barwników chlorofilowych odmierzyć do probówek po 3 ml oleju z każdej zlewki i dodaj po 3 ml heksanu. Roztwory dokładnie wymieszaj i zmierz absorbancję przy długości fali 668 nm wobec heksanu jako próbki odczynnikowej używając do tego celu spektrofotometru.
 - b) w przypadku barwników karotenoidowych odmierzyć do probówek po 0,5 ml oleju z każdej zlewki i dodaj po 5 ml heksanu. Roztwory dokładnie wymieszaj i zmierz absorbancję przy długości fali 442 nm wobec heksanu jako próbki odczynnikowej używając do tego celu spektrofotometru.

5. Wyniki zestaw w postaci tabeli.

Rodzaj próbki	Opis barwy	Absorbancja (-)	
		barwniki chlorofilowe	barwniki karotenoidowe
Olej oliwkowy tłoczony na zimno			
Olej nieogrzewany (kontrolna)			
Olej mikrofalowany 1 min			
Olej mikrofalowany 5 min			
Olej suszony 10 min			
Olej suszony 60 min			
Olej smażony 10 min			
Olej rzepakowy tłoczony na zimno			
Olej nieogrzewany (kontrolna)			
Olej mikrofalowany 1 min			
Olej mikrofalowany 5 min			
Olej suszony 10 min			
Olej suszony 60 min			
Olej smażony 10 min			

6. Wyjaśnij zaobserwowane zmiany barwy pod wpływem obróbki termicznej.

ĆWICZENIE NR 6

1. Temat ćwiczenia

Badanie cech reologicznych ciasta z wykorzystaniem Uniwersalnej Maszyny Testującej Instron 4301 i komory ekstruzyjnej OTMS

2. Cel ćwiczenia

Porównawcza ocena cech reologicznych różnych próbek ciasta wytłaczanego w komorze ekstruzyjnej OTMS (Ottawa Texture Measuring System).

3. Materiał badań i warunki pomiaru

Materiał badań:

- mąka pszenna lub żytnia (jasna lub ciemna), o różnej popiołowości i granulacji oraz znanej wilgotności,
- ciasto o różnej wydajności (150%, 155%, 160%),
- dodatki funkcjonalne np. białka sojowe, gluten witalny itp.

Warunki pomiaru:

- # masa próbki ciasta: 250 g,
- # komora ekstruzyjna OTMS z dnem sitowym (fot. 10),
- # powierzchnia przekroju poprzecznego komory: 50 cm²,
- # prędkość wytłaczania: 50 mm/ min., zakres sił odkształcających: 0 -1000 N,
- # temperatura pomiaru: 22°C.



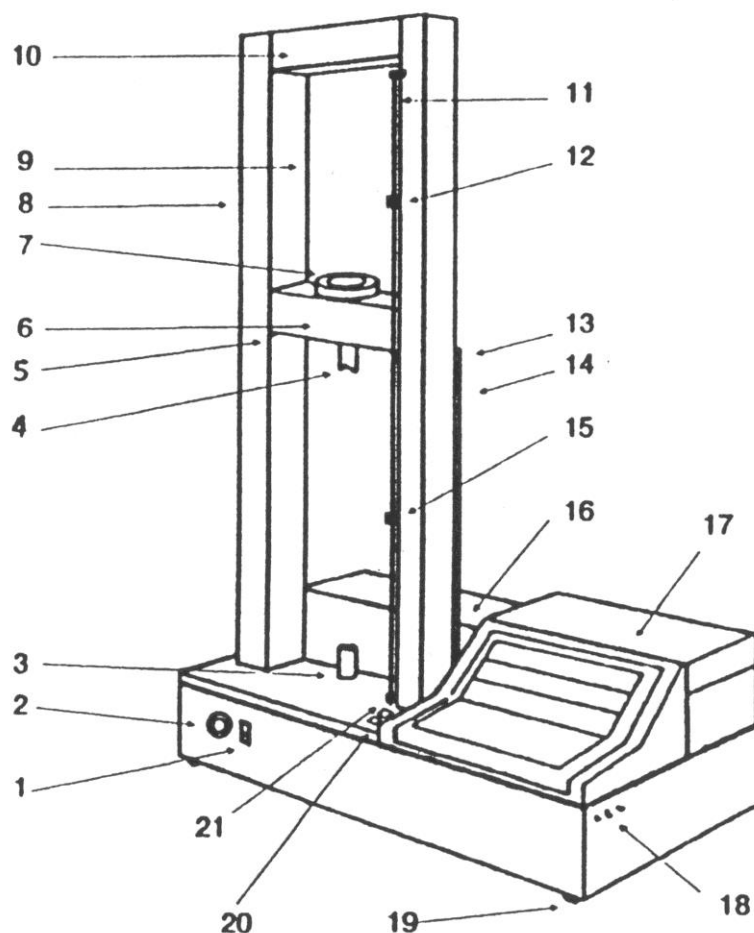
Fot. 10. Instron 4301 oraz komora OTMS zainstalowana w UMT Instron 4301

BADANIE TEKSTURY WYBRANYCH SUROWCÓW I PRODUKTÓW ROŚLINNYCH

Tekstura jest cechą żywności zdeterminowaną silnie jej właściwościami fizycznymi ocenianymi przez zmysły wzroku, dotyku oraz receptory czuciowe jamy ustnej. Na cechę tę składa się wiele czynników, takich jak: kształt wilgotność, skład chemiczny, struktura, własności mechaniczne produktu. Podstawową trudnością w stosowaniu obiektywnych metod instrumentalnych do pomiaru tekstury jest fakt, że składa się na nią wiele komponentów, co uniemożliwia otrzymanie sumarycznego wskaźnika oceny po wykonaniu pojedynczego pomiaru. Jednak w niektórych przypadkach, kiedy określony parametr jest dominujący (np. twardość ziarna, elastyczność miękiszu chleba) wystarcza tylko jeden test pomiarowy. W instrumentalnej ocenie tekstury żywności pomiarom podlegają tylko te własności produktu, które są skorelowane z wrażeniami sensorycznymi odbieranymi przez konsumenta.

Skonstruowano wiele urządzeń do pomiaru tekstury żywności, ich zasada działania jest podobna i sprowadza się najczęściej do pomiaru siły potrzebnej do przecięcia produktu, wniknięcia trzpienia w głąb produktu, ściśnięcia go do uzyskania określonego odkształcenia (25-80%) lub np. wytłoczenia, jeżeli badamy określoną masę próbki. Wielkość deformacji podczas ściskania jest duża ze względu na lekko sprężyste właściwości większości produktów żywnościowych. Umożliwia to uzyskanie pełnej charakterystyki krzywej deformacji i ułatwia jej interpretację.

Zasada działania Uniwersalnej Maszyny Testującej Instron 4301 jest oparta na wysokoczułym systemie pomiaru i zapisu obciążeń z zastosowaniem czujników tensometrycznych. Zasadniczą częścią urządzenia (rys. 10) jest rama przesuwna (6) z umieszczonym w niej ogniwnem obciążającym (7) do którego mocowane są elementy pomiarowe (przystawki) deformujące próbkę. Ruch ramy spowodowany jest przez dwie pionowe śruby napędzane przez główny silnik. Dzięki takiej konstrukcji napędu możliwe jest uzyskanie stałych prędkości odkształcających, co zapewnia uzyskanie dokładnych i powtarzalnych wyników testu. Rama przesuwna porusza się w dół i do góry z regulowaną stałą prędkością w zakresie 0.5-500 mm/min. Maksymalna pojemność głowicy (ogniwa obciążającego) zainstalowanej w maszynie wynosi 1000N. Maszyna sterowana jest z komputera przez łącze IEEE. Aktualnie do przeprowadzania badań i analizy otrzymanych danych służy oprogramowanie INSTRON SERIES IX AUTOMATED MATERIALS TESTING SYSTEM ver.8.04.

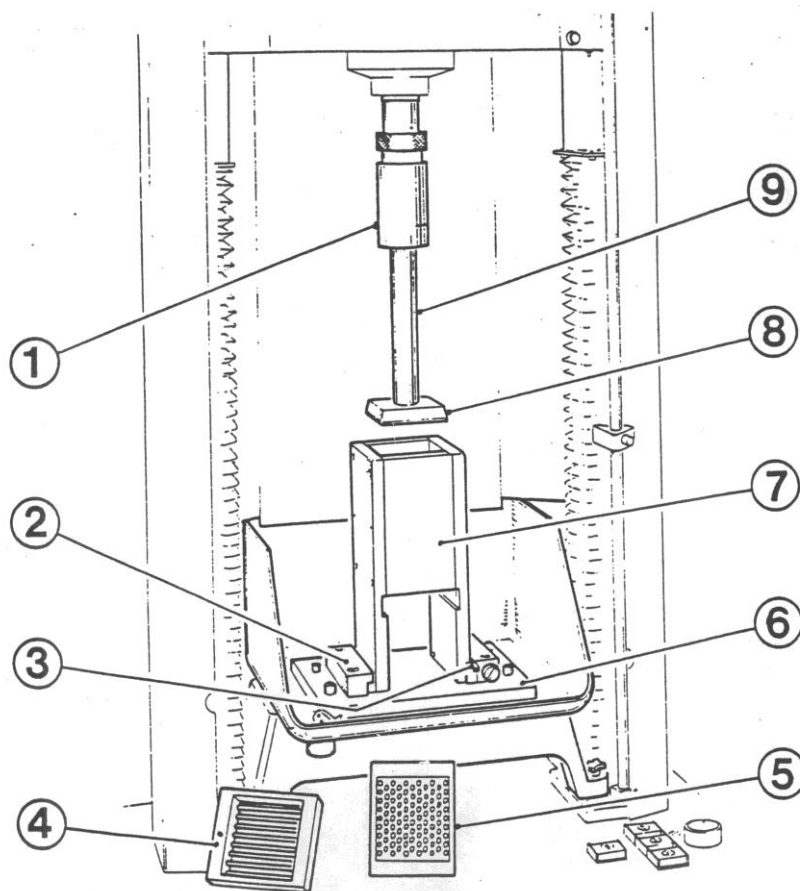


Rys. 10. Budowa UMT Instron 4301

Objaśnienia do rys. 10:

- 1- włącznik zasilania
- 2- wyłącznik awaryjny
- 3- podstawowy uchwyt łączący
- 4- uchwyt łączący głowicę z przystawkami
- 5- lewary
- 6- rama przesuwna
- 7- głowica (ogniwo obciążające)
- 8- prowadnica
- 9- osłona prowadnicy
- 10- łącznik
- 11- ogranicznik górny II poziomu
- 12- ruchomy ogranicznik górny I poziomu
- 13- osłona przewodów łączących
- 14- gniazdo połączenia głowicy
- 15- ruchomy ogranicznik dolny I poziomu
- 16- obudowa silnika
- 17- pulpit sterowniczy
- 18- obudowa
- 19- regulator poziomu
- 20- podstawowe przyciski sterujące ruchem głowicy

21- ogranicznik dolny II poziomu



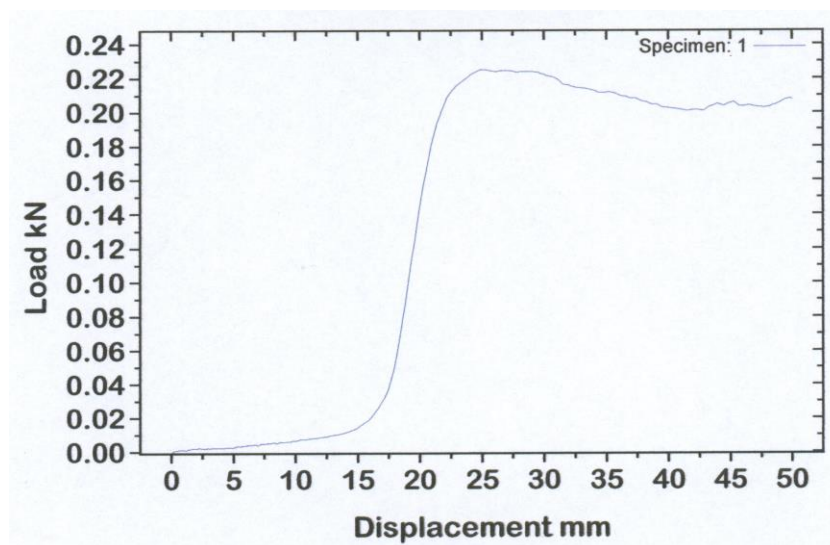
Rys. 11. Komora ekstruzyjna OTMS

Objaśnienia do rys. 11:

- 1, 8, 9 – elementy tłoka komory,
- 7 – komora ekstruzyjna,
- 2, 3, – elementy mocujące płytę, na której umieszczona jest komora,
- 6 – płyta ,
- 4 – dno rusztowe,
- 5 – dno sitowe.

Wykonanie pomiaru:

- przygotować próbki do badań,
- włączyć zasilanie Instrona i sprawdzić rezultaty autotestu (przy prawidłowej pracy urządzenia na wyświetlaczu panelu sterowania pokazuje się wynik **3999**),
- zresetować pamięć trwałą (**S1- 0 - ENTER**),
- wykonać kalibrację głowicy (**LOAD CAL- ENTER**),
- zamocować odpowiedni element pomiarowy,
- włączyć łącze **IEEE** umożliwiające przeprowadzenie pomiarów przy użyciu komputera,
- włączyć drukarkę,
- włączyć komputer i uruchomić program,
- wybrać rodzaj testu pomiarowego,
- umieścić próbkę na płycie pomiarowej,
- zresetować długość pomiarową (**G.L. RESET**) z pulpitu sterowniczego przy wyłączonym łączu **IEEE**, ponownie włączyć łącze,
- przeprowadzić test,
- wydrukować raport pomiarowy,
- zapisać dane w postaci pliku z rozszerzeniem ***.mrd**,
- wydrukować wykresy w układzie współrzędnych siła [N]-przesunięcie (odkształcenie) [mm] (rys. 12),
- wykonać analizę wyników i przedstawić wnioski.



Rys. 12. Krzywa wytłaczania ciasta w komorze OTMS